



Traitement d'effluents gazeux malodorants issus du secteur industriel du traitement des déchets par voie biologique : étude du couplage lit percolateur/biofiltre

Alexandre Soupramanien

► To cite this version:

Alexandre Soupramanien. Traitement d'effluents gazeux malodorants issus du secteur industriel du traitement des déchets par voie biologique : étude du couplage lit percolateur/biofiltre. Génie des procédés. Ecole des Mines de Nantes, 2012. Français. NNT : 2012EMNA0073 . tel-00785374

HAL Id: tel-00785374

<https://theses.hal.science/tel-00785374>

Submitted on 6 Feb 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Thèse de Doctorat

Alexandre SOUPRAMANIEN

*Mémoire présenté en vue de l'obtention
du grade de Docteur de l'Ecole des Mines de Nantes
Sous le label de l'Université Nantes Angers Le Mans*

Discipline : Génie des Procédés

Spécialité : Sciences pour l'Ingénieur, Géosciences, Architecture (SPIGA)

Laboratoire : Laboratoire de Génie des Procédés, Environnement, Agroalimentaire (GEPEA)

Soutenue le 23 Octobre 2012

Ecole Doctorale : 498 (SPIGA)

Thèse n° : 2012 EMNA 0073

Traitement d'effluents gazeux malodorants issus du secteur industriel du traitement des déchets par voie biologique :

Etude du couplage lit percolateur / biofiltre

JURY

Rapporteurs :	M^{me} Michèle HEITZ , Professeur, Université de Sherbrooke, Québec, Canada M. Nicolas BERNET , Directeur de recherche, INRA Narbonne
Examineurs :	M^{me} Laurence LE COQ , Professeur, Ecole des Mines de Nantes M. Nicolas ROCHE , Professeur, Université Aix-Marseille M. Pierre LE CLOIREC , Professeur, Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes
Directeur de Thèse :	M. Eric DUMONT , Maître de conférences HDR, IUT de Nantes
Co-directeur de Thèse :	M. Luc MALHAUTIER , Maître assistant HDR, Ecole des Mines d'Alès

Avant-propos

Cette thèse s'est effectuée en co-tutelle avec le Département des Systèmes Energétiques et Environnement (DSEE) de l'Ecole des Mines de Nantes, sous la co-direction de Mrs Luc Malhautier, Maître assistant HDR dans l'Equipe « Odeurs et COVs » et Eric Dumont, Maître de conférences HDR à l'Institut Universitaire Technologique de Nantes. Les expérimentations ont été réalisées pour l'essentiel au Laboratoire du Génie de l'Environnement Industriel (LGEI) de l'Ecole des Mines d'Alès.

Ces travaux ont été financés par le Groupement des Ecoles des Mines GEM^{Air}.

"C'est dans l'effort que l'on trouve la satisfaction et non dans la réussite. Un plein effort est une pleine victoire.

Une vie de sacrifice est le sommet suprême de l'art. Elle est pleine d'une véritable joie".

Mohandas Karamchand Gandhi (1869-1948)

"Face à l'obstacle, l'homme moyen abandonne ce qu'il a entrepris. Un grand esprit ne se lasse pas et termine ce qu'il a commencé, même si mille fois des obstacles se dressent devant lui, jusqu'à ce qu'il ait remporté le succès."

Sagesse Hindoue

Remerciements

Je tiens tous d'abord à remercier les membres du jury, d'avoir accepté de juger ce travail de thèse. J'adresse mes plus sincères remerciements à Madame Michèle Heitz, Professeur à l'Université de Sherbrooke (Québec), ainsi qu'à Monsieur Nicolas Bernet, Directeur de recherche à L'INRA de Narbonne, pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail en acceptant d'en être les rapporteurs.

Je remercie également Monsieur Pierre Le Cloirec, Professeur à l'Ecole Nationale de Chimie de Rennes d'avoir présidé le jury, ainsi qu'à Madame Laurence Le Coq, Professeur à l'Ecole des Mines de Nantes et Monsieur Nicolas Roche, Professeur de l'Université Aix-Marseille, pour leur participation à l'évaluation de thèse.

Ce travail de thèse a été accueilli au sein du Laboratoire du Génie de l'Environnement Industriel de l'Ecole des Mines d'Alès, dont je remercie le directeur, Monsieur le Professeur Miguel Lopez-Ferber, en co-tutelle avec le Département des Systèmes Energétiques et Environnement de l'Ecole des Mines de Nantes, dont je remercie également la directrice, Madame Le Coq.

Mes remerciements s'adressent également à Monsieur le Professeur Jean-Louis Fanlo pour la confiance qu'il m'a accordée en m'intégrant dans son équipe, et m'avoir procuré autonomie et soutien lors des conférences internationales. Je garderai toujours en mémoire notre miraculeuse survie à un carambolage de voiture à Washington et les shoppings surprises.

Je tiens particulièrement à remercier mon directeur de thèse Monsieur Luc Malhautier, pour son soutien, sa disponibilité et surtout son implication dans ces travaux de thèse. Je me souviendrai particulièrement de nos échappés au centre d'équarrissage de Viriat à Bourg en Bresse. Les imprévus de dernière minute, nos longues conversations en voiture qui m'ont permis de connaître plus intimement et d'apprécier Monsieur Malhautier.

Bref Mille mercis à toi Luc pour ta présence durant ces trois années de thèse.

Je remercie également mon co-directeur de thèse Monsieur Eric Dumont, Maître de conférences à l'IUT de Nantes, de son aide précieuse pour les corrections de mes communications et article en anglais, et aussi de mon manuscrit de thèse. Je tiens à m'excuser de mes envois tardifs et de dernière minute de mes avancés de travaux. Merci encore pour tes conseils Eric.

Je remercie également Madame Claire Dyon, responsable environnement du site ATEMAX Sud-Est, d'avoir permis l'installation d'un pilote sur leur centre d'équarrissage. Je tiens particulièrement à remercier Agnaïs Lagnier, ainsi que le reste de leurs équipes, pour le suivi des analyses de performances du pilote et l'envoi des nombreux sacs de prélèvements olfacto.

Je n'oublie pas l'aide précieuse que m'a apporté Janick Rocher pour ses contributions à certaines de mes expérimentations et pour ses innombrables DGGE et qPCR effectuées. Je tiens également à remercier Evelyne Touraud de son aide pour la correction de mon manuscrit de thèse, et de ses précieux conseils tant professionnels que personnels.

Je remercie également le reste de l'équipe Odeurs et COVs, et notamment Joëlle Insalaco-Fanlo qui a été pour moi, ma deuxième maman tout au long de cette thèse et pour les agréables moments passés ensemble à discuter autour d'un café. Je tiens à remercier Marion, Stéphane et Sandrine de leur aide pour mon pilote.

Enfin pour terminer avec cette formidable équipe, je me rappellerai toujours de ses soirées barbecue chez Joe et Jean-Louis, où toute l'équipe était réunie autour d'une même table dans la joie de vivre, des nombreuses pauses goûtées, des merveilleux tiramisus de Joe, ainsi que de la bonne humeur apportée par Evelyne.

Je souhaite également remercier Cathy, Dédé, Roro, Sylvie, Jean-Claude, Lionel, André pour les bons moments passés ensemble à la pause café. Je remercie également l'AMICALE avec tous ses membres, pour les soirées qu'ils ont organisés, notamment les journées pétanques avec quand même certains questionnements sur les véritables scores obtenus (tu vois de que je parle Sylvie !!! lol).

Merci également à tous les thésards et personnels de l'Ecole des Mines d'Alès avec qui j'ai passé de superbes moments à rigoler, à m'éclater au sport, en soirée, m'extériorisant ainsi du cadre de la thèse, avec notamment Boris, Samy, Olivier, Dimitri, Chris, Razvan, Diego, Marcos, Mélanie, Nico, Ossein, Lulu, Rita, Amandine et Audrey.

Je remercie aussi ma famille, à commencer par mes parents pour leurs encouragements et soutien tout au long de cette thèse, mon frère et ma sœur également. Mes remerciements vont également à tous mes oncles, tantes, cousins et cousines (je ne vais pas tous les citer, sinon on finira jamais ☺) pour leurs soutiens.

Je dédie particulièrement cette thèse à mon grand père Monsieur Virapin, militaire émérite et membre de la Légion d'Honneur, décédé cette année 2012, qui aurait été fier de son petit fils. Merci aussi à la TISGRA FAMILY, avec ses formidables membres (Mimi, djo, Marine, Steven, Deb, Nels, Sathia, Dan, Irfan et Shanou) d'être passée me voir sur Alès pour me remotiver, retourner aux sources, tous les délires et bon moments passés ensemble.

Enfin, on garde toujours le meilleur pour la fin, je remercie tout particulièrement ma femme Sarah Talbi, sans qui cette thèse n'aurait pas aboutie, pour son soutien, sa présence, sa joie de vivre, et sa patience. Merci à toi ma Babounette, I LOVE YOU !!!!

Et pour finir merci à Alès d'avoir accueilli un parigot...

Résumé

Le secteur industriel du traitement des déchets génère des émissions gazeuses induisant des nuisances odorantes auprès des populations riveraines des installations. Ces effluents gazeux contiennent une grande diversité de composés volatils : oxygénés (acides gras volatils, cétones, aldéhydes, alcools), azotés et soufrés (hydrogène sulfuré (H_2S), diméthylsulfure (DMS), diméthyldisulfure (DMDS) et méthanethiol (MT)). Ces effluents gazeux sont traités par un dispositif approprié que sont les bioprocédés. Néanmoins, les seuils de perception des composés odorants et plus particulièrement ceux des composés soufrés, très bas, obligent à atteindre des efficacités d'abattement particulièrement élevées, faute de quoi le résiduel de concentration peut être à l'origine d'un impact notable sur les populations riveraines. L'objectif de cette étude est donc d'améliorer les performances de ces procédés biologiques par la mise en œuvre de filières de traitement. L'originalité de ce travail est d'évaluer les performances d'épuration d'un mélange de composés soufrés par la mise en œuvre du couplage de deux procédés biologiques que sont le lit percolateur et le biofiltre.

Le premier résultat de ce travail de thèse a consisté à évaluer l'impact du pH sur l'activité de dégradation de composés soufrés en mélange (H_2S , DMS et DMDS) en mettant en œuvre des microcosmes. La valeur du pH de la phase aqueuse a une influence sur l'efficacité d'élimination des DMS et DMDS. Une élimination complète de ces derniers est observée pour une gamme de pH comprise entre 5 et 7. Les performances de ce couplage ont été comparées avec celles observées dans le cas de biofiltres seuls (dupliquats). Après une phase d'acclimatation, un fonctionnement stable est maintenu en conditions opératoires stationnaires. Les potentialités du couplage ont été mises en évidence, les niveaux d'abattement des DMS et DMDS étant supérieurs (de l'ordre de 20%) pour le couplage de bioprocédés. La composante microbiologique a fait l'objet d'une attention particulière en évaluant les densités de deux populations connues pour dégrader ces composés soufrés (*Hyphomicrobium* et *Thiobacillus thioparus*) par q-PCR au sein du biofiltre couplé au filtre percolateur et des biofiltres de référence. Les résultats obtenus mettent en évidence la présence de ces deux populations à des taux élevés (10^4 copies du gène ADNr-16S/ng ADN extrait pour *Thiobacillus thioparus* et 10^4 - 10^6 copies du gène ADNr-16S/ng ADN extrait pour *Hyphomicrobium*). La répartition de ces deux populations est similaire dans les deux cas (couplage et biofiltres seuls).

Face à des perturbations représentatives de celles observées sur site, la robustesse du couplage a pu être mise en évidence, les niveaux d'efficacité d'avant les chocs sont récupérés dans un délai inférieur ou égal à 72 heures après l'arrêt de la perturbation. Enfin, une application sur site (équarrissage) a été conduite sur une période de trois mois et a permis de valider les résultats de laboratoire et de montrer l'adaptabilité d'un tel système face à la variabilité d'un effluent réel.

Mots clés : effluents gazeux malodorants ; composés soufrés ; lit percolateur ; biofiltre ; couplage de bioprocédés ; performances ; communauté bactérienne.

Abstract

Waste treatment industries generate gaseous emissions that may induce odour annoyance to the surrounding populations.

These gaseous effluents contain a large variety of volatile compounds such as oxygenated (volatile fatty acids, ketones, aldehydes and alcohols), nitrogen and sulphur compounds (hydrogen sulphide (H_2S), dimethylsulphide (DMS), dimethyldisulfide (DMDS) and methanethiol (MT)). These gaseous emissions are controlled by using an adequate system such as biotechniques. Nevertheless, because of their very low odor thresholds, complete elimination of sulphur compounds has to be assessed, as the residual concentration can induce an odorous impact on neighbourhood populations. The aim of this study is to improve these bioprocesses performances by carrying out an adequate system strategy. The originality of this work is to evaluate the removal efficiency of a mixture of sulphur compounds by implementing a combination of two bioprocesses and more precisely a biotrickling filter and biofilter.

The first step of this PhD. work consisted of evaluating the pH impact on the biodegradation activity of a mixture of sulphur compounds (H_2S , DMS and DMDS) by using microcosms. The pH has an impact on the removal efficiency of DMS and DMDS. The total removal of these compounds is observed for a pH range between 5 and 7. The performances of the coupling have been compared with those reached by implementing control biofilters (duplicated). After an acclimatization period, stable performances are maintained under constant operating conditions. The efficiency of the coupling have been highlighted, the DMS and DMDS abatement levels are superior (around 20%) for the bioprocesses combination.

The microbiological component has been investigated within all biofilters by estimating the densities of two populations involved in the biodegradation of sulphur compounds (*Hyphomicrobium* and *Thiobacillus thioparus*), by using qPCR. The obtained results highlighted the presence of both populations at high level (10^4 copies of DNAr-16S gene/ng extracted DNA for *Thiobacillus thioparus* and 10^4 - 10^6 copies of DNAr-16S gene/ng extracted DNA for *Hyphomicrobium*). The repartition of these two bacterial populations is similar in both cases (coupling system and reference biofilters). Under transient shock load conditions, the robustness of the coupling has been revealed. The efficiency levels before the shock load are recovered 72 hours after the perturbation off. Finally, the monitoring of an on- site pilot (rendering facility) has been carried out during three months. The laboratory results have been confirmed and the suitability of such a system has been showed under industrial gas variability.

Keywords: Malodorous gaseous emissions; Sulphur compounds; Biotrickling filter ; Biofilter ; Bioprocesses coupling ; Performances ; Bacterial communities

Sommaire

Avant-propos	2
Remerciements	4
Résumé	7
Abstract	8
Sommaire	9
Liste des abréviations	11
Liste des tableaux	12
Liste des figures	14
Liste des annexes	19
Introduction générale.....	20
Chapitre 1: Synthèse bibliographique	24
1.1. Introduction	25
1.2. Qu'est ce qu'une odeur	27
1.3. Odeurs et composés malodorants	30
1.4. Réglementation sur les Odeurs	39
1.5. Procédés de traitement des effluents gazeux malodorants	42
1.6. Applications des bioprocédés	57
1.7. La dégradation biologique des Composés soufrés réduits	61
1.8. Conclusion et stratégie de recherche	65
Chapitre 2 : Etude de l'influence du pH sur l'abattement de composés soufrés en mélange ..	68
2.1. Introduction	69
2.2. Matériel et méthodes	71
2.3. Résultats et discussion	78
2.4. Conclusion	90
Chapitre 3 : Traitement de composés soufrés en mélange : Evaluation des performances d'un couplage lit percolateur/biofiltre.	92
3.1. Introduction	93
3.2. Matériel et méthodes	95
3.3. Résultats et discussion	109
3.4. Conclusion	136

Chapitre 4 : Stratégie de perturbation du système sur le couplage de bioprocédés et biofiltre seul et mise en situation d'un filtre percolateur sur site industriel	138
4.1. Introduction	139
4.2. Matériel et méthodes	141
4.3. Résultats et discussion	148
4.4. Conclusion	178
Conclusion générale	180
Annexes	202

Liste des abréviations

AGV : Acides gras volatils

BF : Biofiltre

CET : Centre d'enfouissement technique

CITEPA : Centre interprofessionnel technique d'étude de la pollution atmosphérique

COV : Composés organiques volatils

COVNM : Composé organique volatil non méthanique

CSR : Composé soufré réduit

DGGE : Gel d'électrophorèse en gradient dénaturant

DMS : Diméthylsulfure

DMDS : Diméthyldisulfure

EPS : Extracellular Polymeric Substances

ES : Etat stationnaire

FP : Filtre percolateur

GC-FID : Chromatographie par phase à détecteur à ionisation de flamme

GC-MS : Chromatographie par phase à spectrométrie de masse

GC-PFPD : Chromatographie par phase à détecteur à ionisation de flamme pulsée

ICPE : Installation classée pour la protection de l'environnement

IE : Impact électronique

IFEN : Institut français de l'environnement

H₂S : Hydrogène sulfuré

MT : Méthanethiol

NEC : National emissions ceilings

PCR : Réaction en chaîne par polymérase

pH : Potentiel hydrogène

qPCR : Réaction quantitative en chaîne par polymérase

SOB : Bactéries sulfo-oxydantes

SPME : Microextraction sur phase solide

UO_E : Unité d'odeur européenne

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principales caractéristiques de quelques composés odorants (Pourtier et al., 2000).....	31
Tableau 2 : Principaux composés odorants émis par secteur industriel. (Fanlo, 2005).	32
Tableau 3 : Les procédés biologiques (Diks et Ottengraf, 1991).....	44
Tableau 4 : Avantages et inconvénients d'un filtre percolateur par rapport à un biofiltre (Delhoménie et Heitz, 2005).	60
Tableau 5 : Conditions analytiques du GC-FID et du GC-PID.	74
Tableau 6 : Conditions opératoires de la PCR.	75
Tableau 7 : Pourcentage de similarité des séquences V3 de l'ADNr 16S des bandes DGGE de l'expérience E.2.2, déterminé par alignement des séquences selon Ribosomal Database Project (RDP).	86
Tableau 8 : Propriétés physico-chimiques des matériaux supports utilisés (Gadal-Mawart, 2012).	99
Tableau 9 : Conditions analytiques du GC-PFPD.....	102
Tableau 10 : Conditions opératoires de la PCR	104
Tableau 11 : Conditions réactionnelles des analyses qPCR permettant d'estimer les densités de la communauté bactérienne totale et des populations d' <i>Hyphomicrobium</i> et de <i>Thiobacillus thioparus</i>	106
Tableau 12 : Programme utilisé pour les analyses qPCR permettant d'estimer les densités de la communauté bactérienne totale et des populations d' <i>Hyphomicrobium</i> et de <i>Thiobacillus thioparus</i>	106
Tableau 13 : Inverse de la Constante de Henry à 20°C pour les trois composés soufrés (H ₂ S, DMS, DMDS) (Sander, 1999).....	115
Tableau 14 : Bilan soufre déterminé pour les Biofiltres BFA et BFB et le couplage FP/BFC.	130
Tableau 15 : Caractéristiques des différents chocs administrés aux biofiltres BFA, BFB et au couplage FP/BFC. CSR : Composés Soufrés réduits (DMS et DMDS).	142

Tableau 16 : Conditions analytiques du GC-FPD.	146
Tableau 17 : Nombre moyen de copies du gène ADNr-16S (région V3) par ng d'ADN extrait, quantifié par qPCR au cours du temps.	157
Tableau 18 : Nombre moyen de copies du gène ADNr-16S (région V3) par ng d'ADN extrait, quantifié par qPCR au cours du temps.	167
Tableau 19 : Nombre de copies du genre <i>Hyphomicrobium</i> par ng d'ADN extrait durant l'état stationnaire ES2 et le dernier choc de concentration C5 en fonction de la hauteur de colonne, à partir des échantillons de matériaux prélevés au sein des biofiltres BFA et BFB et BFC.	173
Tableau 20 : Analyse semi-quantitative de l'effluent gazeux réel par GC-MS.	174

Liste des figures

Figure 1 : Courbe de Stevens (Fanlo, 2005).....	27
Figure 2 : Concentration de produits odorants dans les industries de transformation de carcasses d'animaux, en mg/m ³ (Fanlo, 2005).....	36
Figure 3 : Composition des effluents gazeux (gaz de cuisson) de deux centres d'équarrissages (Legrand, 2011).....	36
Figure 4 : Composition d'effluents gazeux émis par huit installations de compostage de boues d'épuration (Cabrol, 2010).....	38
Figure 5 : Domaines d'application des techniques de traitement d'odeurs (Delhoménie et Heitz, 2005).....	42
Figure 6 : Comparaison des technologies de traitement de gaz selon leurs coûts de fonctionnement et d'investissement (Cabrol, 2010).	46
Figure 7 : Principe de fonctionnement d'un biolaveur.....	47
Figure 8 : Principe de fonctionnement du filtre percolateur.	48
Figure 9 : Principe de fonctionnement d'un biofiltre.....	50
Figure 10 : Mécanismes de la biofiltration (Cabrol, 2010).	52
Figure 11 : Abattement de composés soufrés réduits seuls et en mélange par biofiltration à l'échelle du laboratoire (Chung et al., 2010 ; Rehman et al., 2009) et sur site industriel (compostage, équarrissage) (Iranpour et al., 2005).....	58
Figure 12 : Abattement de composés soufrés réduits seuls et en mélange par filtre percolateur à l'échelle du laboratoire (Arellano-Garcia et al., 2010 ; Ramirez et al., 2009) et sur site industriel (compostage, équarrissage) (Iranpour et al., 2005).....	58
Figure 13 : Voies métaboliques de dégradation du DMS, DMDS (d'après Smith et Kelly, 1998 ; Friedrich et al., 2001 ; Schäfer et al., 2010).....	63
Figure 14 : Système de génération de l'effluent gazeux synthétique.....	71
Figure 15 : Présentation d'un microcosme.....	72

Figure 16 : Nombre de jours nécessaire pour atteindre la valeur de pH alloué à chaque microcosme (Moyenne des expériences E1 et E2).....	78
Figure 17 : Evolution du taux d'abattement de l' H_2S , du DMS et du DMDS respectivement, pendant la durée des essais E1 et E2 (moyenne des deux essais).	80
Figure 18 : Représentation de la structure de la communauté d'un échantillon de la phase liquide du microcosme pH1.	82
Figure 19 : Evolution de la valeur de l'indice de Shannon en fonction du pH des microcosmes.....	83
Figure 20 : Structure de la communauté bactérienne totale des différents microcosmes.	85
Figure 21 : Représentation de la structure des communautés dans les microcosmes des expériences E1 et E2 respectivement.	88
Figure 22 : Unité pilote de biofiltration.....	96
Figure 23 : Unité pilote couplage filtre percolateur/biofiltre.	97
Figure 24 : Matériaux supports utilisés pour le biofiltre.	98
Figure 25 : Courbes d'amplification de la qPCR ADNr-16S- <i>T.thioparus</i> obtenues pour les points de la gamme et le témoin négatif (rouge) permettant de déterminer le cycle seuil.	107
Figure 26 : Exemple de gamme standard obtenue pour la qPCR ADNr-16S- <i>T.thioparus</i> et le témoin négatif (rouge).	108
Figure 27 : Profils de concentrations de l' H_2S en fonction du temps et de la hauteur de garnissage pour le biofiltre BFH ₂ S.....	110
Figure 28 : Efficacité d'élimination du DMS et du DMDS par BFA et BFB en fonction du temps respectivement.	113
Figure 29 : Profils de concentrations du DMS et du DMDS en fonction de la concentration et de la hauteur de garnissage pour les biofiltres BFA, BFB.	119
Figure 30 : Moyenne des profils de concentration du DMS et du DMDS en fonction de la hauteur de garnissage pour les biofiltres BFA et BFB à l'état stationnaire de t= 85 à t = 100 jour.	120

Figure 31 : Représentation de la structure des communautés au sein des biofiltres BFA et BFB garnis de plaquettes papetières (10 et 30 cm) ; fibre de coco (50 et 70 cm) et écorces de pin (90 cm).	123
Figure 32 : Nombre de copies du gène de l'ADNr-16S (région V3), permettant de dénombrer la communauté bactérienne totale, du gène ADNr-16S permettant de dénombrer la population <i>Hyphomicrobium</i> , et du gène ADNr-16S permettant de dénombrer la population de <i>Thiobacillus thioparus</i> , à partir échantillons des biofiltres BFA et BFB.	124
Figure 33 : Profil de densité de peuplement pour les populations d' <i>Hyphomicrobium</i> et de <i>Thiobacillus thioparus</i> (obtenu à partir des échantillons des biofiltres BFA et BFB) et profil de concentration du DMS et du DMDS en fonction de la hauteur de colonne. ..	126
Figure 34 : Evolution de la biodégradation du DMS et du DMDS sur BFA/BFB (moyenne) et BFC.	129
Figure 35 : Profils de concentrations moyens du DMS et du DMDS en fonction de la hauteur de garnissage pour les biofiltres BFA/BFB (moyenne) et le biofiltre (BFC) couplé au filtre percolateur (FP) à l'état stationnaire ES1 (102 ^{ème} jour).	131
Figure 36 : Nombre de copies du gène de l'ADNr-16S région V3, permettant de dénombrer la communauté bactérienne totale, du gène ADNr-16S permettant de dénombrer la population <i>Hyphomicrobium</i> et du gène ADNr-16S permettant de dénombrer la population de <i>Thiobacillus thioparus</i> à partir échantillons des biofiltres BFA et BFB.	133
Figure 37 : Profils de densité de peuplement des genres <i>Hyphomicrobium</i> et <i>Thiobacillus thioparus</i> ainsi que la communauté bactérienne totale, en fonction de la concentration et de la hauteur de garnissage pour les biofiltres BFA/BFB (moyenne) et le biofiltre (BFC) couplé au filtre percolateur (FP).	134
Figure 38 : Stratégie de perturbations.	142
Figure 39 : Implantation du filtre percolateur en amont du couplage de procédés : lavage chimique/ biofiltration.....	144
Figure 40 : Stratégie de perturbations. Les prélèvements de matériaux appelés 1, 2 et 4 sont effectués 1h après le dernier choc de la semaine (J3), et les prélèvements de matériaux nommés 5 sont effectués dès l'arrêt de la perturbation C5.	147

Figure 41 : Impact d'un jeûne sur les performances des différentes unités pilotes (biofiltres et couplage lit percolateur/biofiltre).....	150
Figure 42 : Evolution de l'efficacité d'élimination des DMS et DMDS au cours du temps pour BFB et BFA (biofiltre contrôle).....	152
Figure 43 : Profils longitudinaux d'élimination de l'H ₂ S. Le rapport de la concentration C sur la concentration d'entrée C ₀ à la hauteur H de colonne est tracé en fonction de la hauteur adimensionnelle H/H ₀	153
Figure 44 : Profils longitudinaux d'élimination du DMS et du DMDS respectivement. Le rapport de la concentration C sur la concentration d'entrée C ₀ à la hauteur H de colonne est tracé en fonction de la hauteur adimensionnelle H/H ₀	154
Figure 45 : Profils longitudinaux d'élimination du DMS et du DMDS respectivement. Le rapport de la concentration C sur la concentration d'entrée C ₀ à la hauteur H de colonne est tracé en fonction de la hauteur adimensionnelle H/H ₀	155
Figure 46 : Evolution du nombre de copies de l'ADNr-16S permettant de dénombrer la population <i>Hyphomicrobium</i> en fonction du temps.	159
Figure 47 : Evolution du nombre de copies de l'ADNr-16S permettant de dénombrer la population <i>Thiobacillus thioparus</i> en fonction du temps.	160
Figure 48 : Evolution de l'efficacité d'élimination des DMS et DMDS au cours du temps au sein de BFB et du couplage FP/BFC.	162
Figure 49 : Profils longitudinaux d'élimination du DMS et du DMDS respectivement. Le rapport de la concentration C sur la concentration d'entrée C ₀ à la hauteur H de colonne est tracé en fonction de la hauteur adimensionnelle H/H ₀	164
Figure 50 : Profils longitudinaux d'élimination du DMS et du DMDS respectivement au sein de BFC. Le rapport de la concentration C sur la concentration d'entrée C ₀ à la hauteur H de colonne est tracé en fonction de la hauteur adimensionnelle H/H ₀	166
Figure 51 : Evolution du nombre de copies de l'ADNr-16S permettant de dénombrer les populations <i>Hyphomicrobium</i> et <i>Thiobacillus thioparus</i> en fonction du temps.	168

Figure 52 : Evolution des profils de concentration d' H_2S en fonction de la hauteur de colonne pour BFA et BFB lors du choc C5 en fonction de la hauteur de colonne. C5 : dernier choc de concentration d'une durée de 48h effectué sur l'ensemble des procédés biologiques.	170
Figure 53 : Profils de concentration du DMS et du DMDS respectivement au sein de BFA, BFB et BFC lors du choc C5 en fonction de la hauteur de colonne. C5 : dernier choc de concentration d'une durée de 48h effectué sur l'ensemble des procédés biologiques. .	171
Figure 54 : Evolution de la concentration des composés soufrés dans l'effluent gazeux à traiter pendant la durée de l'étude.....	175
Figure 55 : Evolution de la concentration des composés soufrés (H_2S et méthylmercaptan) en sortie de colonne et en fonction du temps.	176

Liste des annexes

Annexe 1 : Composition du milieu nutritif HCMM3 (Chapitre 2).....	203
Annexe 2 : Courbes d'étalonnage de l'hydrogène sulfuré (H ₂ S), du diméthylsulfure (DMS) et du diméthyldisulfure (DMDS) par chromatographie en phase gazeuse (Chapitre 2)	205
Annexe 3 : Profils DGGE de la communauté bactérienne totale contenue dans les différents microcosmes des expériences E1.1 ; E1.2 ; E2.1 (Chapitre 2).....	207
Annexe 4 : Plans d'implantation des unités pilotes de biofiltration et du couplage filtre percolateur/biofiltre (Chapitre 3)	209
Annexe 5 : Test de génération de l'effluent gazeux synthétique alimentant les différents biofiltre et le couplage filtre percolateur/biofiltre (chapitre 3)	212
Annexe 6 : Composition de la solution nutritive (chapitre 3).....	213
Annexe 7 : Courbes d'étalonnage de l'hydrogène sulfuré (H ₂ S), du diméthylsulfure (DMS) et du diméthyldisulfure (DMDS) par chromatographie en phase gazeuse (Chapitre 3)	215
Annexe 8 : Détails du calcul en bilan soufre (chapitre 3).....	217
Annexe 9 : Comparaison des profils de structuration de la communauté bactérienne totale au sein de BFA/BFC et BFB/BFC obtenus par PCR-DGGE (chapitre 4).....	220
Annexe 10 : Analyses par qPCR de la densité de peuplement de la communauté bactérienne totale ainsi que du genre <i>Thiobacillus thioparus</i> au sein des biofiltres BFA, BFB et BFC (chapitre 4)	221

Introduction générale

L'odorat, système de détection très puissant, est paradoxalement souvent considéré comme un sens mineur : sa perte n'est pas considérée comme grave par rapport à celle de l'ouïe ou de la vue. Pourtant, l'importance des sensations olfactives n'est plus à démontrer à l'heure actuelle. Jadis tolérées, les mauvaises odeurs sont aujourd'hui perçues comme une agression. Les odeurs sont, avec les poussières et le bruit, l'une des nuisances les plus fortement ressenties par les riverains d'installations industrielles.

Les impacts des nuisances odorantes se manifestent à différents niveaux et revêtent une importance économique et sociétale : gêne des riverains allant jusqu'à des plaintes et conflits, frein à l'urbanisation et dépréciation du foncier, dévalorisation de la démarche « qualité » des entreprises et dans certains cas, remise en cause de la pérennité de l'activité industrielle. Les industriels appartenant au secteur de la gestion et du traitement des déchets sont particulièrement confrontés à cette problématique des odeurs. On peut citer les stations de traitement des eaux usées, les sites de traitement des ordures ménagères ou encore les plateformes de compostage et les équarrissages. Véritable enjeu pour l'acceptation de ces installations, les odeurs sont donc au cœur des priorités environnementales des unités de traitement des déchets.

Globalement, les effluents malodorants sont caractérisés par des débits élevés contenant de faibles concentrations en Composés Organiques Volatils (COV) variés, exception faite de l'ammoniac et de l'hydrogène sulfuré, composés inorganiques très fréquemment rencontrés dans les gaz malodorants.

Parce qu'elles sont à l'origine de pollution atmosphérique en général et de nuisances odorantes en particulier, la législation en vigueur, de plus en plus contraignante pour les industriels émetteurs, impose, dans la majorité des cas, le traitement de ces émissions gazeuses. La problématique à laquelle est confronté l'industriel consiste à choisir la solution technique la plus adaptée, efficace en termes d'abattement d'odeurs et économiquement acceptable. Parmi les différentes technologies disponibles, les procédés biologiques sont largement favorisés car particulièrement appropriés aux débits et concentrations caractéristiques des effluents émis par le secteur de la gestion et du traitement des déchets.

Parmi les techniques biologiques disponibles, la biofiltration est la plus employée à l'échelle industrielle. De plus, ce procédé est intéressant par sa simplicité de mise en œuvre, des coûts de fonctionnement et d'investissement peu onéreux et par la destruction des molécules

(respect environnemental). Un biofiltre est un réacteur garni par un matériau support sur lequel se développent des micro-organismes sous forme de biofilm. La biofiltration consiste à transférer les polluants de la phase gazeuse vers la phase aqueuse constituée par le biofilm, au sein duquel ils subissent une biodégradation sous l'action de micro-organismes épurateurs qui les utilisent comme source de carbone et d'énergie grâce à leur capacité à oxyder ces composés volatils de manière totale ou partielle. Les performances épuratoires d'un biofiltre sont influencées par de nombreux paramètres opératoires, en agissant à la fois sur le transfert des polluants et sur les microorganismes, et font l'objet de nombreuses études à l'échelle du laboratoire. Néanmoins, malgré les performances élevées qui peuvent être atteintes en conditions d'alimentation stables, les obstacles souvent attribués aux procédés biologiques sont la difficulté à éliminer certains composés récalcitrants, l'accumulation de sous-produits pouvant inhiber l'activité biologique, les faibles cinétiques de dégradation des polluants, leur manque de robustesse face à des conditions opératoires et environnementales variables...

De plus, les seuils de perception des composés odorants et plus particulièrement des composés soufrés (Hydrogène Sulfuré (H_2S), méthylmercaptan, DiMéthylSulfure (DMS) et DiMéthylDiSulfure (DMDS)), très bas (de l'ordre du $\mu g.m^{-3}$), obligent à atteindre des niveaux d'abattement élevés, faute de quoi le résiduel de concentration peut être à l'origine d'un impact notable sur les populations riveraines. Les contraintes liées au fonctionnement de ces bioprocédés et l'évolution de la réglementation font qu'il devient de plus en plus difficile de satisfaire aux normes de rejet par la mise en œuvre d'un procédé unique de traitement. La mise en œuvre de filières de traitement, c'est-à-dire de couplages de procédés, est intéressante car elle permettrait de pallier les limitations inhérentes aux procédés et de respecter la réglementation en vigueur.

La solution la plus utilisée à l'heure actuelle consiste à coupler la biofiltration à du lavage physico-chimique. Néanmoins, ce couplage de procédés n'est parfois pas suffisant pour atteindre des performances de traitement totalement satisfaisantes. De plus, la filière biofiltration/lavage physico-chimique induit des risques liés à l'utilisation et au stockage de produits chimiques dangereux, génère des effluents liquides nécessitant des traitements adaptés, et conduit à des coûts de fonctionnement élevés. Aussi, le présent travail s'inscrit-il dans la recherche de solutions toujours plus performantes et fiables pour l'élimination des composés odorants en général et des composés soufrés en particulier.

Ce travail a consisté à évaluer plus précisément les potentialités du couplage de deux procédés biologiques que sont le filtre percolateur et la biofiltration pour le traitement d'un mélange de composés soufrés différant par leur biodégradabilité. Le fonctionnement de ce couplage a été caractérisé en régimes stationnaire et perturbé, et examiné à deux niveaux, par la mesure de la résultante fonctionnelle de dégradation d'une part et la structure, en termes de densités de peuplement, de la communauté bactérienne (communauté bactérienne totale et populations fonctionnelles d'intérêt) d'autre part.

Le premier chapitre présente une vue d'ensemble du contexte de ce travail sous forme d'une synthèse bibliographique. Dans une première partie, le contexte des nuisances malodorantes sera tout d'abord rappelé avant de focaliser notre attention sur le secteur industriel lié à la gestion et au traitement des déchets particulièrement confronté à la problématique des odeurs. Nous nous intéresserons ensuite aux procédés biologiques en détaillant notamment l'influence de certains paramètres opératoires déterminants sur les performances de ces systèmes. Les performances atteintes par ces bioprocédés (biofiltre et filtre percolateur) pour traiter les composés soufrés feront ensuite l'objet d'une attention particulière. Les procédés biologiques constituent des écosystèmes complexes, sièges de relations étroites entre les performances épuratoires et les communautés microbiennes. Dans cette dernière partie et dans le cadre du traitement biologique des composés soufrés, les populations bactériennes fonctionnelles, c'est à dire impliquées dans leur dégradation, seront examinées.

D'après la littérature, les communautés bactériennes oxydant les composés soufrés sont sensibles aux conditions environnementales en général et au pH en particulier. Les objectifs de ce second chapitre seront d'étudier, dans un premier temps, l'impact du pH sur l'activité de dégradation de composés soufrés en mélange (H_2S , DMS et DMDS) par une communauté préalablement acclimatée à ces polluants. Il s'agira de déterminer les valeurs de pH pour lesquelles la dégradation biologique de ces composés soufrés est observée. Des microcosmes, dont les conditions opératoires sont contrôlées, seront mis en œuvre pour répondre à ce questionnement. Dans un second temps, nous examinerons la structure des communautés microbiennes au sein de ces modèles d'étude et identifierons les microorganismes dominants. Le lien entre leur présence et leur capacité à consommer les Composés Soufrés Réduits (CSR) sera alors évalué. Ce travail a été valorisé sous la forme d'une publication dans une revue internationale à comité de lecture (*Journal of Chemical Technology and Biotechnology*).

Le chapitre précédent a permis d'établir des recommandations dans l'objectif d'améliorer le traitement par voie biologique de composés soufrés en mélange (H_2S , DMS et DMDS). Le troisième chapitre visera plus particulièrement à évaluer, en régime stationnaire, les potentialités du couplage de deux procédés biologiques (filtre percolateur/biofiltre) utilisé pour traiter un mélange de composés soufrés et à comparer les niveaux d'abattement atteints par le couplage avec ceux mesurés pour des biofiltres seuls, utilisés en tant que référence.

La régulation du pH de la phase liquide étant plus aisée pour le filtre percolateur que pour le biofiltre, la configuration filtre percolateur/biofiltre sera privilégiée, le biofiltre affinant l'élimination des composés plus récalcitrants par post-traitement. Nous chercherons ensuite à déterminer quelles relations, s'il y en a, s'établissent entre les densités de peuplement et la structure de la communauté bactérienne d'une part et la résultante fonctionnelle de dégradation d'autre part. De plus, afin d'approcher la communauté fonctionnelle, nous estimerons les densités de peuplement de deux populations reconnues pour consommer les composés soufrés. La mise en relation de la distribution des densités de ces populations avec celle de la résultante fonctionnelle de dégradation sera également étudiée.

A l'échelle industrielle, l'activité fluctuante des procédés de traitement des déchets (compostage, équarrissage) se traduit par une variabilité de l'effluent gazeux, en termes de composition et de concentration. Cette variabilité peut perturber le fonctionnement des procédés biologiques de traitement. Il apparaît donc intéressant d'évaluer la robustesse du couplage filtre percolateur/biofiltre, soumis à des perturbations. L'approche expérimentale développée dans le quatrième et dernier chapitre se base sur les travaux réalisés au sein du LGEI par Cabrol et al. (2012). Le premier objectif de ce chapitre est d'évaluer de manière qualitative l'impact de pics de charge transitoire, répétés et d'intensité croissante sur l'efficacité d'élimination des composés soufrés et plus particulièrement sur les capacités de résistance et la résilience (capacité de récupération suite à un choc) fonctionnelles de ces procédés biologiques. Le second objectif est d'étudier la réponse de la communauté bactérienne à des fluctuations environnementales en se focalisant plus précisément sur les densités de peuplement de la communauté bactérienne totale et de deux populations fonctionnelles d'intérêt. Enfin, nous apporterons des premiers éléments de réponse au questionnement industriel relatif aux gains de performance atteints lors de la mise en œuvre du couplage de deux procédés biologiques par rapport à un biofiltre seul en évaluant les potentialités du filtre percolateur dans le cas particulier du traitement d'un gaz réel émis par un équarrissage. La comparaison des performances obtenues par le filtre percolateur installé

sur site et l'unité pilote (filtre percolateur) mise en œuvre au laboratoire fera l'objet d'une attention particulière.

Chapitre 1:

Synthèse bibliographique

1.1. Introduction

Les nuisances odorantes constituent un des problèmes environnementaux auxquels se trouvent confrontées les sociétés industrialisées. De nos jours, les mauvaises odeurs sont considérées comme étant le troisième motif de plaintes après le bruit et les poussières (Rozec et al., 2003). Ces émissions malodorantes sont à l'origine d'une inquiétude grandissante des riverains, accentuée par l'association des odeurs à un risque sanitaire potentiel, et se traduisant par une augmentation des plaintes (Cabrol, 2010). Dans le cas des odeurs, la problématique n'est pas obligatoirement et simplement une réduction des émissions, mais une réduction de la nuisance subie par la population riveraine des industriels émetteurs (Fanlo, 2006). Ainsi, dans une première partie, quelques rappels sur la notion d'odeur et sa caractérisation seront évoqués. Une odeur est constituée par un mélange complexe de molécules volatiles dont les composés soufrés présentant des seuils de perception par le nez humain très faibles (de l'ordre du $\mu\text{g.m}^{-3}$). Ces composés soufrés contribuent donc à la gêne occasionnée auprès des populations riveraines des installations émettrices. Les impacts de cette problématique des odeurs, au-delà de la gêne ressentie par la population, concernent directement les industriels et les collectivités locales : image ternie, frein au développement économique. Dans une seconde partie, les industries émettrices seront répertoriées avant de focaliser notre attention sur le secteur industriel lié au traitement des déchets (équarrissage, compostage, stations d'épuration des eaux usées) et leur mise en décharge (centre d'enfouissement technique) particulièrement affecté par ce problème de nuisances odorantes. Ces problèmes d'odeur sont aujourd'hui pris en compte dans les textes réglementaires qui seront évoqués dans une troisième partie. Cette réglementation de plus en plus stricte contraint les industriels à mettre en œuvre des procédés de traitement de ces émissions malodorantes. De plus, dans le cadre de la résolution d'un problème d'odeurs, le seuil de perception des composés odorants en général et des composés soufrés en particulier oblige à atteindre des efficacités d'abattement de ces composés particulièrement élevées, faute de quoi le résiduel de concentration peut être à l'origine d'un impact notable sur les populations riveraines.

Parmi les procédés de traitement disponibles à l'heure actuelle, les procédés biologiques constituent des techniques de choix, en raison de leur caractère destructif, de leur adaptation au traitement des composés chimiques constitutifs des effluents gazeux malodorants, de leur capacité à traiter des débits élevés à faibles concentrations de polluants caractéristiques des gaz émis par le secteur lié au traitement des déchets, et de leur coût de fonctionnement

modérés. Ils feront l'objet d'une attention particulière dans la quatrième partie de ce chapitre. Les performances atteintes par ces bioprocédés (biofiltre et filtre percolateur) pour traiter les composés soufrés, seront particulièrement examinées dans une cinquième partie.

Les biofiltres constituent des écosystèmes complexes, sièges de relations étroites entre les performances épuratoires et les communautés microbiennes. Dans cette dernière partie, dans le cadre du traitement biologique des composés soufrés, les populations bactériennes impliquées dans leur dégradation seront donc abordées.

1.2. Qu'est ce qu'une odeur

L'odeur peut être définie d'une manière simple, comme un mélange complexe de molécules chimiques volatiles (Humeau et Le Cloirec, 2010). L'odeur peut aussi être décrite comme « l'interprétation du signal produit par les chémorécepteurs spécifiques du système olfactif » (Jaubert, 2005).

La perception de l'odeur dépend en grande partie de son intensité (Lestremau, 2003 ; Nicolas et al., 2008 ; Pierrette et Moch, 2009). La relation entre le stimulus odorant et la réponse faite par les sujets suit les lois psychophysiques semblables à celle connues dans d'autres modalités sensorielles telles que la vision ou l'audition (Stevens, 1936).

La loi de Stevens (**Eq.1**) (Fanlo, 2005) permet d'établir une relation entre l'intensité du stimulus odorant et l'intensité de la perception olfactive (**figure 1**).

$$(1) \quad \text{Log } I = n \log(X/X_0) + \text{Constante}$$

I : Intensité perçue; X : Concentration dans l'air inhalé (ppm); X_0 : Concentration au seuil (concentration donnant une odeur juste décelable en ppm), n : accroissement de l'intensité odorante en fonction de la concentration.

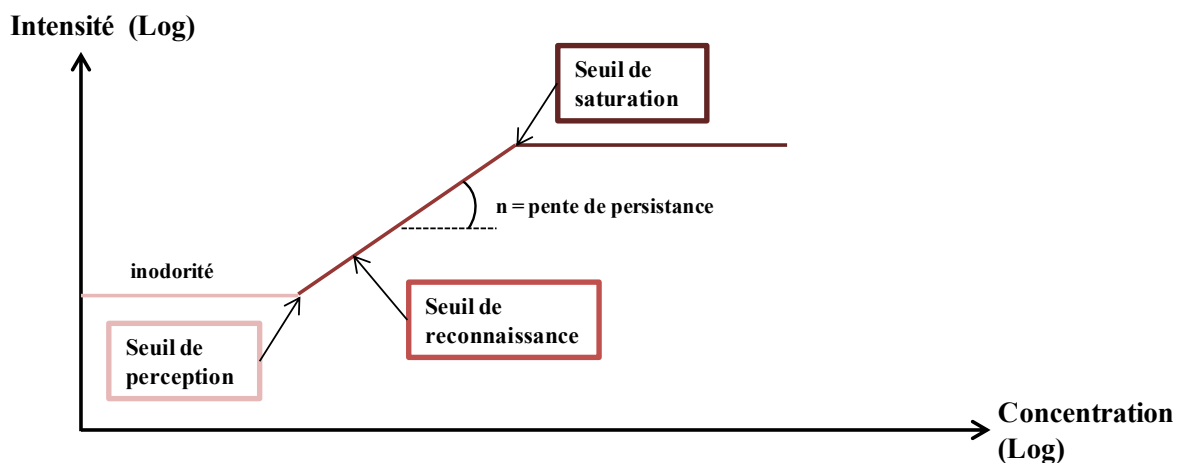


Figure 1 : Courbe de Stevens (Fanlo, 2005).

- ✓ Le seuil de perception d'un composé odorant donné correspond à la valeur maximale de sa concentration X_0 , pour laquelle 50% des individus composant un groupe d'experts en perçoivent l'odeur.
- ✓ Le seuil de reconnaissance correspond à l'identification de l'odeur par le groupe d'experts.
- ✓ Le seuil de saturation correspond à la concentration chimique au-delà de laquelle l'intensité de l'odeur paraît identique au sujet quelle que soit la concentration.
- ✓ La pente de persistance (n) traduit la sensibilité de l'odorat à la variation de la concentration du composé odorant. Si $n \leq 0,2$, l'odeur est dite persistante (peu d'influence de la dilution sur l'intensité), si $n \geq 0,8$, l'odeur est dite fugace.

1.2.1 Qualité de l'odeur

D'un point de vue qualitatif, il est difficile de classer les sensations odorantes car contrairement à la sensation gustative qui peut être définie par quatre composantes (sucré, salé, amer, acide), il est impossible de dégager des odeurs caractéristiques permettant de qualifier toutes les autres. Jaubert et al. (1987) ont déterminé un « champ des odeurs » qui permet de caractériser les perceptions olfactives. Il s'agit d'appréhender la qualité de l'odeur en termes descriptifs sur la base d'un nombre de qualificatifs bien définis. La principale limitation de cette méthode est qu'elle repose en grande partie sur la sémantique (Martin et al., 1991).

1.2.2. Caractère hédoniste d'une odeur

Le premier réflexe d'un individu est de donner une information de type hédonique plutôt qu'une information de type identification. La tonalité hédonique de la perception odorante est une de ses principales caractéristiques. En effet, peu d'odeurs apparaissent neutres. La complexité de ces réactions affectives aux odeurs résulte du fait qu'elles sont acquises par apprentissage (Schaal et al., 1988 ; Stein et al., 1958 ; Lestremau, 2003). Ainsi, le caractère hédonique varie d'un groupe de personnes à un autre suivant leur habitude, leur cadre de vie et leur culture. De plus, de manière générale, les odeurs paraissent désagréables en dehors de leur contexte (Jaubert, 2005).

Les aspects psychologiques de l'olfaction (l'apprentissage de l'odeur étant responsable des caractères subjectif et affectif des impressions olfactives) expliquent la variabilité des réponses concernant la qualité ou la nature hédoniste d'une odeur. En conséquence, en matière de prévention des nuisances odorantes d'origine industrielle, c'est l'intensité de l'odeur qui est utilisée pour caractériser une odeur.

1.3. Odeurs et composés malodorants

Les nombreux travaux de recherche sur la chimie de l'odeur, la neurophysiologie de l'odorat, la psychosociologie et l'éthologie permettent d'acquérir de meilleures connaissances de la physiologie et la perception de l'odeur (Holley, 1999 ; Balez, 2001 ; Jaubert, 2005). Par conséquent, différentes définitions coexistent, notamment selon le point de vue de la cause de l'odeur (composés émis) ou de son effet (perception). Les normes NF EN 13725 et ISO 5492 définissent l'odeur comme « attribut organoleptique perceptible par l'organe olfactif quand on respire certaines substances volatiles » (Pourtier, 2000).

Ces substances volatiles odorantes appartiennent généralement aux familles de molécules suivantes :

- Les molécules oxygénées : les acides organiques, les aldéhydes, les cétones, les alcools.
- Les composés azotés : l'ammoniac, les amines.
- Les composés soufrés : l'hydrogène sulfuré, les mercaptans, les sulfures, les disulfures.

Le **tableau 1** répertorie quelques composés odorants fréquemment détectés. L'analyse de ce tableau met clairement en évidence que les composés soufrés, de par leur seuil de perception olfactif faible (de l'ordre du $\mu\text{g.m}^{-3}$) sont très odorants (Lestremat et al., 2003). C'est pourquoi, dans le cadre de cette thèse, nous nous intéresserons plus particulièrement au traitement de ces composés.

Tableau 1 : Principales caractéristiques de quelques composés odorants (Pourtier et al., 2000).

Classe du composé	Composé	Formule chimique	Caractéristiques de l'odeur	Seuil olfactif (mg.Nm ⁻³)
Cétone	Acétone	CH ₃ -CO-CH ₃	Fruité, doux	1,1 à 240
Aldéhydes	Acétaldéhyde	CH ₃ -CHO	Acre, suffocant	0,04 à 1,8
	Butyraldéhyde	C ₃ H ₇ -CHO	Rance	0,013 à 15
	Isovaléraldéhyde	2(CH ₃)-CH-CH ₂ -CHO	Fruité, pomme	0,072
Acides	Acétique	CH ₃ -COOH	Vinaigre	0,025 à 6,5
	Butyrique	C ₃ H ₇ -COOH	Beurre, rance	0,0004 à 3
Azotés	Ammoniac	NH ₃	Très piquant, irritant	0,5 à 37
	Ethylamine	C ₂ H ₅ -NH ₂	Piquant, ammoniacale	0,05 à 0,83
	Diméthylamine	2(CH ₃)-NH	Poisson avarié	0,047 à 0,16
Soufrés	Hydrogène sulfuré	H ₂ S	Œuf pourri	0,0001 à 0,03
	Méthylmercaptan	CH ₃ SH	Choux, ail	0,0005 à 0,08
	Ethylmercaptan	C ₂ H ₅ SH	Choux en décomposition	0,0025 à 0,03
	Diméthylsulfure	2(CH ₃)-S	Légumes en décomposition	0,0025 à 0,65
	Diéthylsulfure	2(C ₂ H ₅)-S	Ethérée	0,0045 à 0,31
	Diméthyldisulfure	2(CH ₃)-2S	Putride	0,003 à 0,014

La famille des composés soufrés regroupe l'hydrogène sulfuré (composé inorganique) et des molécules organiques ou sulfures organiques répartis en deux familles :

- Les dérivés alkyles de sulfures (analogues soufrés des éthers de formule générale R-S-R).
- Les mercaptans (analogues soufrés des alcools, de formule générale R-SH).

Les sulfures organiques se retrouvent dans la nature dans certains végétaux tels que l'ail ou l'oignon. Ils sont caractérisés par une odeur forte (chou pourri), (Lau et al., 1996) qui diminue avec le poids moléculaire du composé (Haug, 1993). Les sulfures organiques d'origine biogénique proviennent essentiellement de la dégradation de protéines contenant des acides aminés soufrés (cystéine et méthionine), en conditions aérobies et anaérobies (Rosenfeld et Suffet, 2004 ; Cabrol, 2010).

1.3.1. Principales sources émettrices de composés soufrés

Les activités génératrices d'odeurs sont multiples dont le secteur industriel. Les nuisances odorantes peuvent être causées par la matière première, les composés intermédiaires et/ou les produits finaux du process industriel. Parmi les sources, on peut citer l'industrie chimique, les activités liées à l'énergie, les industries du bois et du papier, la fabrication ou la mise en œuvre de peintures, l'industrie sidérurgique et cokière. Il convient de rajouter à cette liste les sources liées au domaine agro-alimentaire, à celui des déchets : ordures ménagères, compostage de boues d'épuration, équarrissages, ou au traitement des eaux usées urbaines ou industrielles.

Le **tableau 2** ci-dessous associe à chaque secteur industriel la composition des émissions malodorantes :

Tableau 2 : Principaux composés odorants émis par secteur industriel. (Fanlo, 2005).

Secteur industriel	Principaux composés odorants émis
Combustion (gaz, charbon, pétrole)	NO _x , SO _x , H ₂ S, mercaptans, aldéhydes, hydrocarbures, acides organiques
Industrie chimique	NH ₃ , SO _x , H ₂ S, mercaptans, aldéhydes, hydrocarbures, acides organiques
Industrie du papier et de la viscose	SO _x , H ₂ S, mercaptans, sulfures organiques
Elevage	NH ₃ , composés azotés, H ₂ S, mercaptans, aldéhydes, cétones, alcools, acides organiques
Gestion des déchets : ordures ménagères	composés azotés, H ₂ S, mercaptans, sulfures organiques, alcools, acides organiques
Gestion des déchets : traitement d'eaux usées	NH ₃ , composés azotés, H ₂ S, mercaptans, sulfures organiques, aldéhydes, acides organiques
Gestion des déchets : compostage	H ₂ S, sulfures organiques, mercaptans, aldéhydes, acides organiques, cétones, terpènes
Gestion des déchets : industrie de déchets d'animaux	composés azotés, H ₂ S, mercaptans, sulfures organiques, aldéhydes, acides organiques

L'analyse de ce tableau met en exergue que les effluents gazeux émis par le secteur du traitement des déchets contiennent une large gamme de composés volatils (oxygénés, azotés et soufrés) dont certains, tels que les composés soufrés, ont un potentiel odorant élevé (Canovai et al., 2004 ; Fanlo, 2005 ; Legrand, 2011). A titre d'illustration, les émissions odorantes d'un équarrissage, provenant du mélange des gaz de cuiseurs et de la ventilation des stockages sont effectivement composés d'amines, d'acides gras volatils et de composés soufrés dont l' H_2S et les mercaptans.

Dans le cadre de travail de cette thèse, les émissions gazeuses issues du secteur industriel de traitement des déchets feront donc l'objet d'une attention particulière. Pour une meilleure lisibilité, les émissions issues des déchets à l'état liquide et à l'état solide sont différenciées et seront détaillées dans le paragraphe suivant.

1.3.2. Emissions de composés odorants issus du traitement de déchets liquides

1.3.2.1. Les eaux usées

Différents processus chimiques (oxydo-réduction) et/ou biologiques (dégradations, fermentations) induisent la formation de molécules odorantes. Les composés généralement émis sont des composés soufrés réduits et azotés (dégradation des acides aminés). Leur émission est favorisée par différents facteurs tels que le temps de séjour, la charge organique etc. Les mauvaises odeurs sont généralement perçues au niveau du réseau d'assainissement et au niveau des installations de traitement.

- **Les réseaux d'assainissement**

Dans les réseaux d'assainissement et en particulier au niveau des postes de relevage, le sulfure d'hydrogène (H_2S) est le composé majoritairement émis, le niveau de concentration pouvant atteindre 100 mg.m^{-3} alors que la concentration des mercaptans dans l'air ambiant n'excède pas $0,1 \text{ mg.m}^{-3}$ (Desauziers et al., 2006). L'ammoniac est à une concentration de 5 mg.m^{-3} .

Les teneurs de ces produits sont très variables, car elles dépendent de la charge initiale en matières fermentescibles, et de leur nature. Il faut toutefois noter que l'écoulement sans brassage des effluents limite l'émission de l' H_2S (gaz dissous) (Guillot et al., 2000).

- **Les stations d'épuration d'eaux usées urbaines et industrielles**

Par l'intermédiaire de leurs sous-produits d'épuration (graisses, boues), les eaux usées urbaines et industrielles chargées en matières organiques (composés azotés, soufrés et phosphorés), peuvent induire la formation d'odeurs désagréables suivant un processus biologique de fermentation qui se déclenche en milieu réducteur (Desauziers et al., 2006).

Les principaux composés soufrés émis par les stations d'épuration sont l' H_2S , les mercaptans ainsi que les sulfures et disulfures organiques. Lorsque la septicité de l'effluent ou du dépôt organique est atteinte, les bactéries réduisent facilement (potentiel redox normal de -200 à -300 mV) les sulfates et les composés organiques soufrés en H_2S majoritairement et en sulfures organiques (mercaptans, sulfures) dont leur émission génère de mauvaises odeurs.

Les composés azotés dont l'ammoniac, les amines, l'indole et le scatole proviennent de l'urine (composés azotés majoritaires : urée (25 g.L^{-1}) et créatinine ($1,5 \text{ g.L}^{-1}$) et de la dégradation biologique en anaérobiose des protéines et des acides aminés (acide aminé tryptophane) (Desauziers et al., 2006). D'autres composés odorants tels que les Acides Gras Volatils (AGV), aldéhydes, alcools ou cétones sont également responsables de nuisances odorantes.

Les zones de la station d'épuration les plus odorantes sont l'arrivée des effluents, surtout si la température extérieure est élevée, et les zones d'épaississement et de déshydratation des boues.

1.3.3. Emissions de composés odorants issus du traitement de déchets solides

- **Les ordures ménagères**

L'analyse du biogaz issu de la dégradation anaérobie des déchets d'ordures ménagères (Allen et al., 1997 ; Parker et al., 2002 ; Chiriack, 2004) recensent plus de 500 composés : composés oxygénés (alcools, acides organiques), azotés (amines) et soufrés (H_2S , mercaptans, sulfures organiques). Ces composés soufrés présents dans le biogaz proviennent de la dégradation des acides aminés soufrés (cystéine, méthionine). La composition du biogaz peut varier d'un site à l'autre car elle dépend de la nature et de la composition du déchet déposé au Centre d'Enfouissement Technique (CET) et des processus chimiques et biologiques se déroulant au sein de la décharge.

L'analyse de gaz de fermentation d'ordures ménagères en France a mis en évidence la présence d'ammoniac ($0,1$ à 5 mg.m^{-3}), de dérivés aminés (3 à 32 mg.m^{-3}) et d'alcools, aldéhydes et cétones (4 à 25 mg.m^{-3}) (Fanlo, 2005). Le biogaz émis par un CET situé à Majorque est également composé d'aldéhydes (65 à $98 \text{ } \mu\text{g.m}^{-3}$), de cétones (78 à $129 \text{ } \mu\text{g.m}^{-3}$), d'alcools (67 à $78 \text{ } \mu\text{g.m}^{-3}$), mais également d'esters (25 à $33 \text{ } \mu\text{g.m}^{-3}$), d'alcanes (19 à $62 \text{ } \mu\text{g.m}^{-3}$), de terpènes ($1,4$ à $2,4 \text{ } \mu\text{g.m}^{-3}$) et de composés soufrés réduits ($2,6$ à $4,2 \text{ } \mu\text{g.m}^{-3}$) (Gonzales et al., 2012).

En revanche, l'analyse du biogaz émis par un CET d'Helsinki en Finlande met en évidence que le principal composé odorant émis est l' H_2S à une concentration de 600 mg.m^{-3} (Arnold et al., (2008)).

D'autres constituants gazeux (N_2 , H_2 , CO) peuvent être détectés sous forme de traces dans le biogaz (de l'ordre de $0,1$ à 3% vol/ vol du gaz sec), (Bayard et al., 2010). La valorisation d'un biogaz peut être effectuée si la teneur en méthane dépasse 60% et la teneur en H_2S n'excède pas 1% .

- **Les élevages intensifs**

Les élevages intensifs sont à l'origine de pollutions odorantes qui sont liées, soit au fonctionnement du site d'élevage, soit à l'épandage ou au traitement des déjections aqueuses ou solides. Tous les types d'élevage sont concernés par ce problème : ovins, bovins, porcs, volaille etc. La caractérisation des émissions odorantes des élevages a permis d'inventorier soixante-quinze composés différents appartenant aux trois familles chimiques de composés malodorants (Sheridan et al, 2004 ; Rappert et Müller, 2005, Schafer et al., 2010). Plus spécifiquement, les porcheries génèrent des flux de mercaptans, d'aldéhydes, d'acides gras volatils (propionique et butyrique), et d'alcools alors que les disulfures et la triméthylamine sont dominants dans les effluents gazeux issus de lisiers de porc.

La température influe beaucoup sur les teneurs en molécules odorantes qui sont, en moyenne, multipliées par deux lorsque la température augmente de 15 à 23°C . Les niveaux de concentration d'hydrogène sulfuré et d'ammoniac sont de l'ordre de 20 mg.m^{-3} , les autres produits d'environ $100 \text{ } \mu\text{g.m}^{-3}$ (Fanlo, 2005).

- **Les équarrissages**

Les émissions gazeuses des industries liées au traitement des sous-produits d'animaux sont représentées sur la **figure 2** :

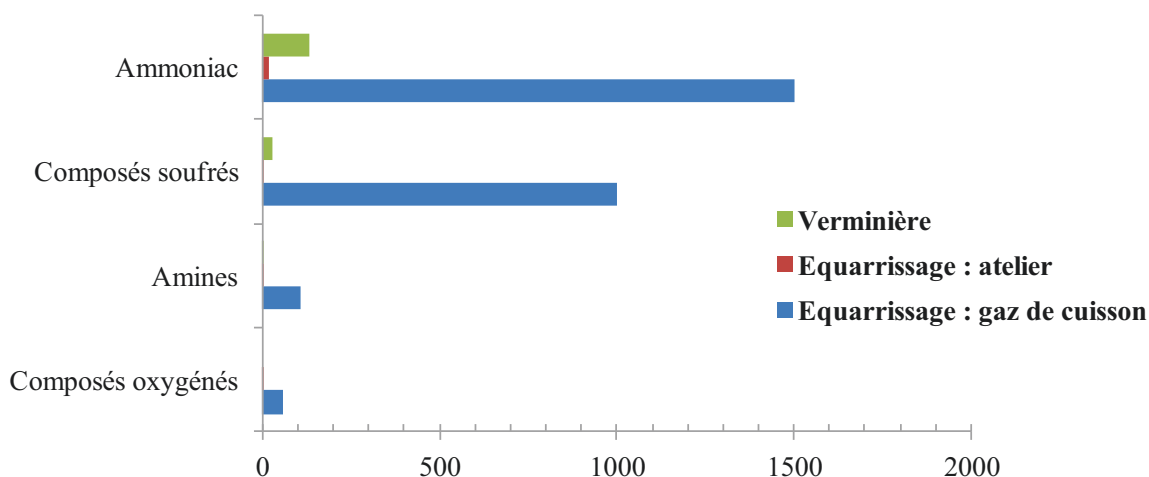


Figure 2 : Concentration de produits odorants dans les industries de transformation de carcasses d'animaux, en mg/m^3 (Fanlo, 2005).

D'après la **figure 2**, les gaz de cuisson de ce type d'industrie semblent contenir majoritairement des molécules azotées et soufrées. Néanmoins, suivant l'activité du site, la composition de ce type de gaz varie (**figure 3**).

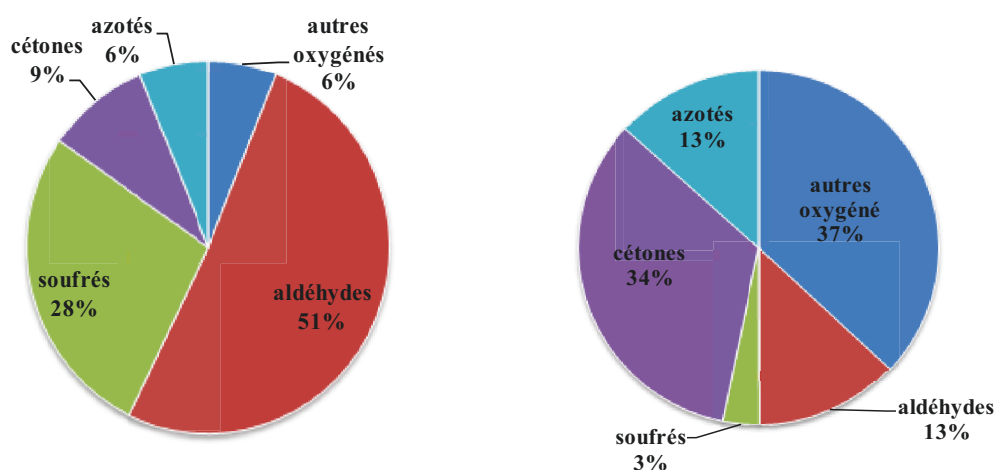


Figure 3 : Composition des effluents gazeux (gaz de cuisson) de deux centres d'équarrissage (Legrand, 2011).

De plus, sur un site industriel type équarrissage, les teneurs en composés odorants peuvent varier de façon importante suivant l'activité des ateliers (**figure 2**) : les teneurs en composés odorants des gaz de cuisson diffèrent fortement (d'un facteur 10 à 500 selon les familles

chimiques de composés) de celles mesurées au sein des effluents de ventilation des ateliers (Fanlo et al., 2005).

Même si l'hydrogène sulfuré est présent dans les gaz issus des équarrissages (Haug, 1993 ; Rappert et Müller, 2005), la plupart des études s'accorde sur le fait que les sulfures organiques tels que les mercaptans, le Diméthylsulfure (DMS) ou le Diméthyldisulfure (DMDS), sont les composés odorants les plus caractéristiques de l'odeur associée à un centre d'équarrissage (Fanlo, 2005 ; Legrand, 2011).

- **Le compostage**

Globalement, les effluents de compostage sont souvent définis par des débits élevés contenant une large gamme de composés volatils variés, la plupart en très faibles concentrations. Trois familles chimiques de composés peuvent être mises en évidence (**figure 4**) (Cabrol, 2010) :

- L'ammoniac émis, a la plus forte concentration (40 mg.m^{-3}) lors du compostage aérobie de déchets organiques variés contenant des boues d'épuration (Pagans et al., 2006 ; Bouchy et al., 2007).
- Les composés soufrés avec les DMS et DMDS qui sont les composés odorants les plus caractéristiques de l'odeur associée au compostage de déchets organiques (Smet et al., 1999 ; Kim et al., 2005 ; Mayrhofer et al., 2006 ; Bouchy et al., 2007 ; Cabrol, 2010). Ils représentent 35 à 40% des composés émis.
- Les composés oxygénés tels que les aldéhydes (butyraldéhyde, isovaléraldéhyde) ou les cétones (méthyl éthyl cétone) ont une contribution à l'odeur plus faible que celle des soufrés, mais ils peuvent participer à une impression générale désagréable en mélange avec d'autres composés odorants (Rosenfeld et al., 2004 ; Rappert et al., 2005).

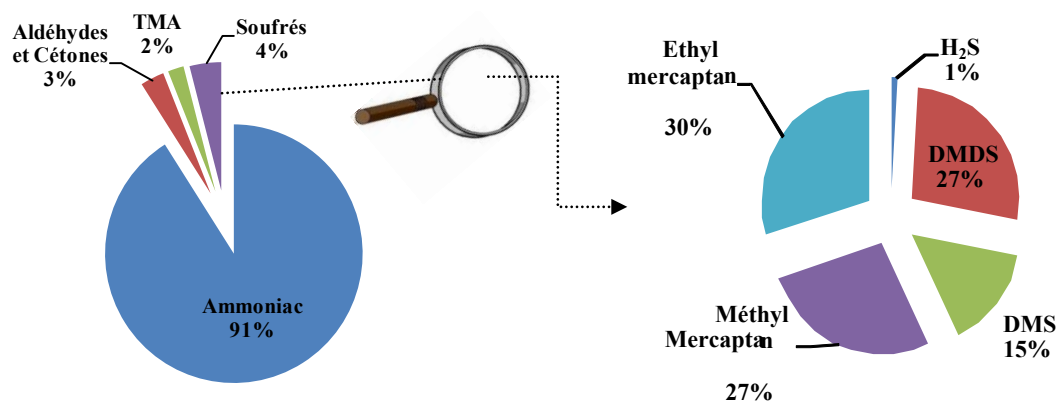


Figure 4 : Composition d'effluents gazeux émis par huit installations de compostage de boues d'épuration (Cabrol, 2010).

• Conclusion

Ces composés soufrés ayant un impact odorant fort nécessitent donc une attention particulière dans le cadre de la gestion des nuisances odorantes générées par ce secteur du traitement des déchets en général et des équarrissages en particulier.

A ce jour, les problèmes d'odeurs s'inscrivent dans un contexte réglementaire qui se durcit même si la législation est encore relativement floue. Du fait de l'extrême diversité des polluants atmosphériques, et de l'absence d'inventaire exhaustif des risques sanitaire et environnemental, il est difficile d'établir des seuils de concentrations admissibles (Hamer, 2003 ; Cabrol, 2010).

1.4. Réglementation sur les Odeurs

La notion de nuisances odorantes est apparue très tôt, dès le développement d'activités industrielles. En France, la loi du 19 juillet 1976 relative aux installations classées pour la protection de l'environnement définit le cadre réglementaire pour la réduction des nuisances. Cet intérêt vis-à-vis des nuisances et des mauvaises odeurs s'est accéléré ces dernières années avec les concepts de bien-être et de qualité de vie. Les arrêtés ministériels, circulaires et instructions techniques décrivent des dispositions de plus en plus précises et contraignantes.

- **A l'échelle internationale**

Signée par 34 pays de l'Union Européenne, la convention de Genève sur la pollution atmosphérique est entrée en vigueur en 1983. Celle-ci se décline en plusieurs protocoles internationaux comme celui de Göteborg en 1999 fixant des plafonds d'émissions de polluants dans l'atmosphère.

- **A l'échelle européenne**

La directive du 23 octobre 2001, revue en 2005 par la National Emissions Ceilings (NEC), fixe des objectifs à atteindre à l'horizon 2020, notamment en fixant des plafonds de réduction d'émissions de SO₂ (72%), NO_x (60%), NH₃ (27%), Composés Organiques Volatils Non Méthaniques (COVNM) (51%), et particules (59%) (IFEN, 2006, Cabrol et al., 2011).

De plus, des directives européennes spécifiques réglementent les rejets gazeux des activités industrielles, telles que les industries utilisatrices de solvants (1999/13/CE), de combustion (01/81/CE) et l'incinération de déchets (2000/76/CE).

D'autres directives limitent les valeurs de polluants dans l'air ambiant (exemple, directive 2004/107/CE pour les hydrocarbures aromatiques ou 1999/30/CE pour les oxydes d'azote)

- **A l'échelle nationale**

La loi du 30 décembre 1996 sur l'air et l'utilisation rationnelle de l'énergie (dite « loi LAURE 96-1236 ») intègre la notion de nuisances odorantes dans l'article L. 220-2 du code de l'environnement qui stipule : « Constitue une pollution atmosphérique [...] l'introduction par l'homme, directement ou indirectement, dans l'atmosphère et les espaces clos, de substances ayant des conséquences préjudiciables de nature à [...] provoquer des nuisances olfactives excessives ».

En application de la directive européenne de 2001, la France a dû mettre en place un programme de réduction des émissions de 20% de polluants (SO_2 , NO_x , COVNM, NH_3) dans l'atmosphère en 2003 (jusqu'en 2020) (CITEPA, 2006).

L'article 29 de l'arrêté ministériel du 2 février 1998, réglemente les émissions gazeuses des Installations Classées pour la Protection de l'Environnement (ICPE), en incluant une étude d'impact environnemental comportant un volet « odeur ». En effet :

- Le niveau d'odeur est défini conventionnellement comme « ...étant le facteur de dilution qu'il faut appliquer à un effluent pour qu'il ne soit plus ressenti comme odorant par 50% des personnes constituant un échantillon de populations... »
- Le débit d'odeur est défini conventionnellement comme étant « ... le produit du débit d'air rejeté, exprimé en $\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, par le facteur de dilution au seuil de perception, exprimé en nombre d'unités d'odeur par m^3 ... »

Les installations susceptibles de générer des nuisances odorantes par le traitement de déchets ne sont pas soumises à autorisation et sont ainsi réglementées par des arrêtés sectoriels.

Dans le cadre de cette thèse, nous nous intéresserons plus particulièrement aux émissions odorantes par les équarrissages.

1.4.1. Législation appliquée aux émissions d'équarrissages

Pour les équarrissages, la réglementation est fixée par l'arrêté ministériel du 12 février 2003 remplacé par celui du 25 avril 2008. Il stipule de manière générale (article 3) que l'installation doit être implantée à au moins 200 mètres des habitations occupées par des tiers ou des locaux habituellement occupés par des tiers, des stades ou des terrains de camping agréés ainsi que des zones destinées à l'habitation par des documents d'urbanisme opposables aux tiers [...].

L'article 11 précise que les aires de réception et les installations de stockage des cadavres, déchets et sous-produits d'origine animale doivent être sous bâtiment fermé pour limiter les dégagements d'odeurs à proximité de l'établissement, notamment par l'installation de portes d'accès escamotables automatiquement. Ces aires doivent également être étanches et aménagées de telle sorte que les jus d'écoulement des cadavres, déchets et sous-produits d'origine animale ne puissent rejoindre directement le milieu naturel et soient collectés et traités.

L'article 28 établit un descriptif sur le traitement des effluents et conditions de rejets. Concernant la dispersion des émissions odorantes, l'exploitant doit s'assurer que la dispersion des émissions odorantes, l'exploitant doit s'assurer que la concentration d'odeur calculée dans un rayon de 3 kilomètres par rapport aux limites de l'installation ne dépasse pas $5 \text{ UO}_E \cdot \text{m}^{-3}$, plus de 175 heures par an pour les installations existantes ou plus de 44 heures par an pour les installations nouvelles.

Enfin, afin d'améliorer la prévention et d'assurer un meilleur suivi des nuisances odorantes, les exploitants des installations qui rejettent une concentration d'odeurs à l'émission supérieure à $100000 \text{ U O}_E \cdot \text{m}^{-3}$ ou qui font l'objet de nombreuses plaintes sont contraints de disposer d'un observatoire des odeurs.

Même si les modifications de procédés ou d'équipement constituent une alternative de choix pour la réduction des émissions de composés odorants, il reste souvent indispensable de traiter ces émissions gazeuses malodorantes par des procédés adaptés aux caractéristiques de ces gaz.

1.5. Procédés de traitement des effluents gazeux malodorants

Il existe différentes technologies de traitement de telles émissions. L'efficacité et la rentabilité d'un procédé dépendent des spécificités propres au gaz à traiter (gammes de débits, concentrations et nature chimique des polluants) et les particularités du site de production (surface disponible). Le choix final est basé sur des considérations physico-chimiques qui déterminent la faisabilité technique du procédé, ainsi que sur des critères économiques tels que les coûts d'investissement et de fonctionnement du procédé.

L'évaluation vers un procédé de traitement se fait donc au cas par cas. Néanmoins, des indications permettent de mieux cerner aussi bien les domaines d'applicabilité des différentes techniques (**figure 5**) que leurs coûts respectifs.

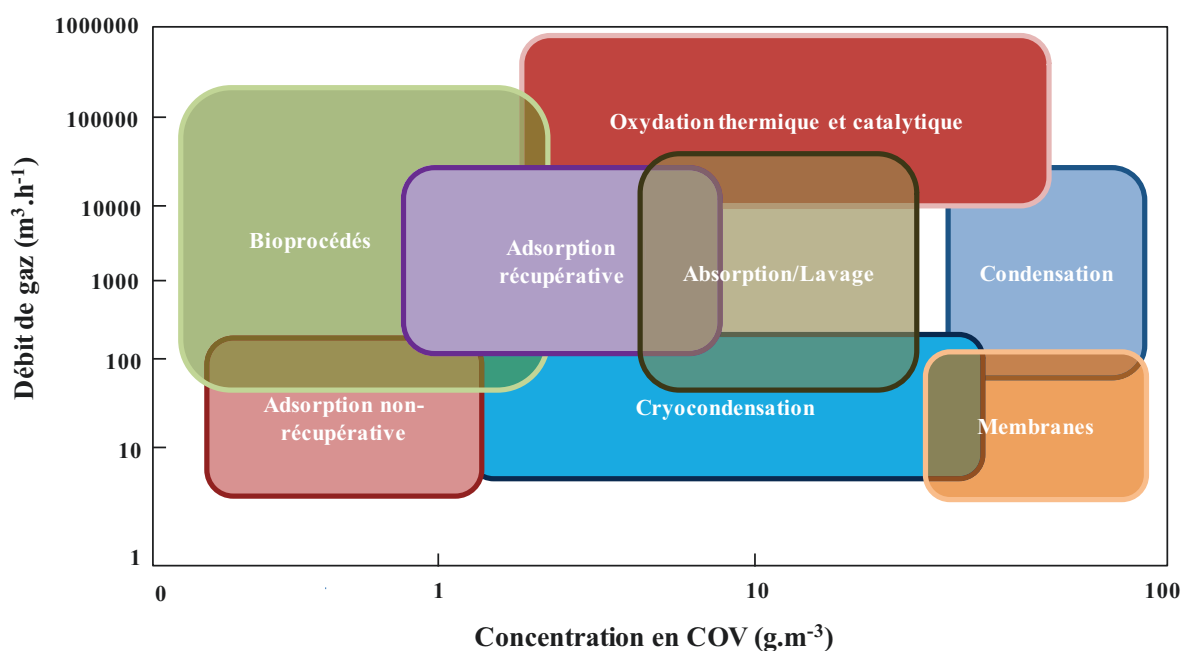


Figure 5 : Domaines d'application des techniques de traitement d'odeurs (Delhoménie et Heitz, 2005).

Les procédés de traitement par absorption, adsorption et par voie biologique apparaissent appropriés au traitement des émissions industrielles du secteur des déchets caractérisées par des débits compris entre 1000 et 100000 Nm³.h⁻¹ et contenant des teneurs faibles en polluants (généralement inférieures à 1 g.Nm⁻³). C'est pourquoi ils seront particulièrement développés par la suite.

1.5.1. Absorption

Cette technique consiste en un lavage chimique des gaz (Kohler, 1985 ; Waltrip et al., 1985 ; Manero, 1995). Le transfert est généralement favorisé par la présence d'une réaction chimique (Pope et al., 1980 ; Abe et al., 1982 ; Le Goallec et al., 1991).

Ce procédé conduit au transfert des composés odorants de la phase gazeuse vers une phase liquide (Roustan, 2006). Ce transfert s'opère dans des contacteurs gaz-liquide. Le lavage chimique comprend généralement trois phases distinctes : un lavage en milieu acide ($\text{pH} < 3$) employant de l'acide sulfurique et permettant l'élimination de l'ammoniac et des composés azotés par formation de sulfate d'ammonium ; un lavage oxydo-basique ($\text{pH} \approx 9$) permettant l'élimination des composés soufrés H_2S , $(\text{CH}_3)_2\text{S}$, CH_3SH par oxydation chimique en milieu alcalin (le lavage basique oxydant au chlore est le plus répandu) et enfin un lavage basique ($\text{pH} \approx 11$) à la soude permettant l'élimination des molécules organiques restantes tels les acides organiques, les aldéhydes, les cétones (Smet et Van Langenhove, 1998 ; Busca et Pistarino, 2003). C'est aussi au cours de cette étape que les composés soufrés résiduels (mercaptans) sont éliminés.

L'intérêt de cette technique est de ne pas être sensible aux variations de débit et de charge. En outre, elle permet d'atteindre des rendements de l'ordre de 99% pour l'hydrogène sulfuré, 95% pour les mercaptans, et de 93% pour l'ammoniac. Elle permet de traiter des effluents à forts débits (entre 1000 et 100 000 $\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$) et faibles concentrations de polluants (jusqu'à 500 $\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$). Cette technique peut être utilisée dans le cadre de traitement de gaz odorants issus de station d'épuration d'eaux usées (Van Groenestijn et Kraakman, 2005) ou encore d'équarrissages (Bourcier, 2005). Sur les plateformes de compostage, la multitude de composés variés présents en mélange dans les effluents malodorants nécessite l'association de plusieurs tours de lavage en série traitant chacune une famille de composés (Easter et al., 2005), comme mentionné ci-dessus.

Le principal inconvénient du traitement par absorption est lié à son coût de fonctionnement élevé (consommation de réactifs chimiques, pertes de charge, pH) (Roustan, 2006). De plus, le lavage physico-chimique induit des risques liés à l'utilisation et au stockage de ces réactifs et génère des effluents liquides nécessitant des traitements adaptés (Delhoménie et Heitz, 2005).

1.5.2. Adsorption

Elle a pour objectif de piéger le composé odorant sur une phase solide. De très nombreux matériaux d'origine naturelle ou synthétique ont été mis en œuvre (Bansal *et al.*, 1988). Différents types d'interactions à la surface du matériau peuvent être différenciés, soit physique (établissement de liaisons de faible énergie ou force de Van der Waals) ou chimique (établissement de liaisons covalentes) (Le Cloirec, 2003). Le matériau adsorbant le plus utilisé dans les procédés industriels de désodorisation est le charbon actif, mais il existe aussi les argiles, des gels silice ou des résines de zéolites (Jeon *et al.*, 2011). Cette technique s'avère particulièrement adaptée au traitement d'effluents à forts débits (jusqu'à 100 000 m.h⁻¹) et faibles concentrations de polluants. C'est aussi une des seules technologies applicables à des débits très faibles.

A titre d'exemple, ce procédé a été utilisé par un industriel d'un site d'équarrissage. L'équipement des camions de collecte avec des filtres de charbon actif permet de réduire les nuisances odorantes engendrées par le passage de ces derniers en ville (Fanlo, 2006).

L'adsorption n'est pas adaptée au traitement d'effluents chauds (> 55°C) et humides (> 50% d'humidité relative), en raison de phénomènes de compétition avec l'eau (Fanlo, 2005).

1.5.3. Les procédés biologiques à biomasse fixée

Trois types de procédés biologiques de traitement de gaz se distinguent suivant le caractère mobile ou statique de la phase aqueuse et de la biomasse (**tableau 3**).

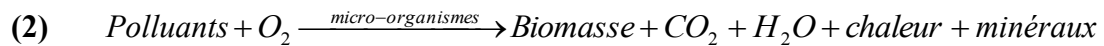
Tableau 3 : Les procédés biologiques (Diks et Ottengraf, 1991).

Biomasse	Phase aqueuse	
	Mobile	Statique
Biomasse en suspension	Biolaveur	----
Biomasse immobilisée	Filtre percolateur	Biofiltre

La biofiltration est, à ce jour, la technique biologique ayant fait l'objet du plus grand nombre d'installations industrielles.

1.5.3.1. Principe

Les biotechniques sont des traitements basés sur une réaction d'oxydation exothermique des composés par des micro-organismes en présence d'oxygène, celle-ci conduisant à la formation de biomasse, d'eau et de produits minéraux (**Eq.2**).



Quel que soit le procédé biologique mis en œuvre, le traitement s'effectue en deux étapes :

- Une étape d'absorption des composés gazeux dans une phase liquide ou au sein d'un biofilm.
- Une étape de biodégradation en milieu aérobie des polluants présents en solution ou dans le biofilm. Ces polluants sont utilisés comme sources de carbone et d'énergie par les micro-organismes.

La cinétique globale est imposée par l'étape limitante, et influencée par de nombreux facteurs (Malhautier et al., 2005 ; Kennes et al., 2009 ; Mudliar et al., 2010) :

- Les caractéristiques des polluants (transfert, biodégradabilité).
- Les caractéristiques de la biomasse (densité, diversité, structure, activité, fonction).
- Les caractéristiques de la charge (concentration, temps de séjour).
- Les caractéristiques opératoires du biofiltre (pH, température, oxygène, éléments nutritifs, matériau support).

Les procédés biologiques sont largement utilisés dans le traitement des effluents gazeux malodorants. Ils apparaissent effectivement plus appropriés que les méthodes physico-chimiques (adsorption, absorption) pour traiter des gaz pollués dont les débits sont élevés (plus de $100\,000\text{ m}^3.\text{h}^{-1}$) et la teneur en polluant faible, de quelques $\mu\text{g}.\text{m}^{-3}$ à $5\text{ g}.\text{m}^{-3}$ (Devinny et al., 1999 ; Fanlo, 2005 ; Kennes et al., 2009). En effet, un de leurs principaux avantages est d'aboutir, sous réserve d'une bonne gestion, à une destruction des molécules et non à un déplacement de la pollution.

Cette technique apparaît également particulièrement intéressante par le spectre très large de composés odorants qu'elle permet d'éliminer, par sa relative simplicité de mise en œuvre et par ses coûts d'investissement (8000 € à 55000 €) et de fonctionnement (2000 € à 8000 €) modérés par $\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ (Delhoménie et Heitz, 2005), comparés aux techniques de traitement physico-chimique (**figure 6**), (Delhoménie et Heitz, 2005 ; Prado et al., 2009 ; Schulz, 2009).

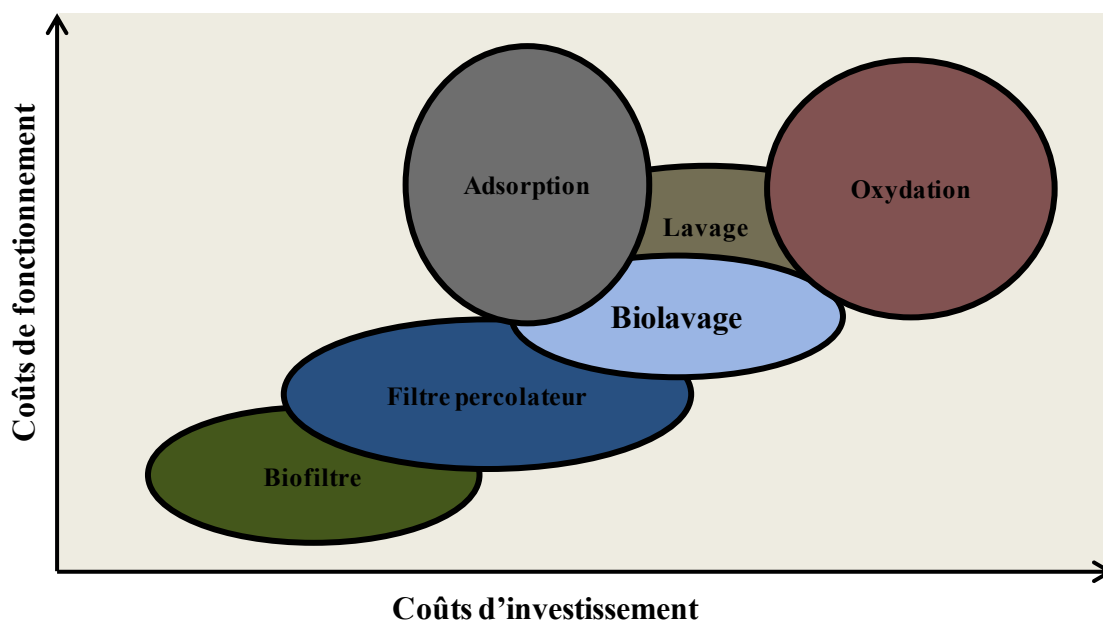


Figure 6 : Comparaison des technologies de traitement de gaz selon leurs coûts de fonctionnement et d'investissement (Cabrol, 2010).

Les procédés biologiques font l'objet d'une recherche particulièrement active visant à améliorer les performances de ces bioréacteurs par une meilleure compréhension des mécanismes biologiques de dégradation des composés odorants. Le travail réalisé dans le cadre de cette thèse s'inscrivant dans cette optique, les procédés biologiques seront donc plus particulièrement développés dans la partie suivante.

1.5.3.2. Le biolaveur

Dans le cas du biolaveur (**figure 7**), la biomasse est en suspension dans le liquide de lavage.

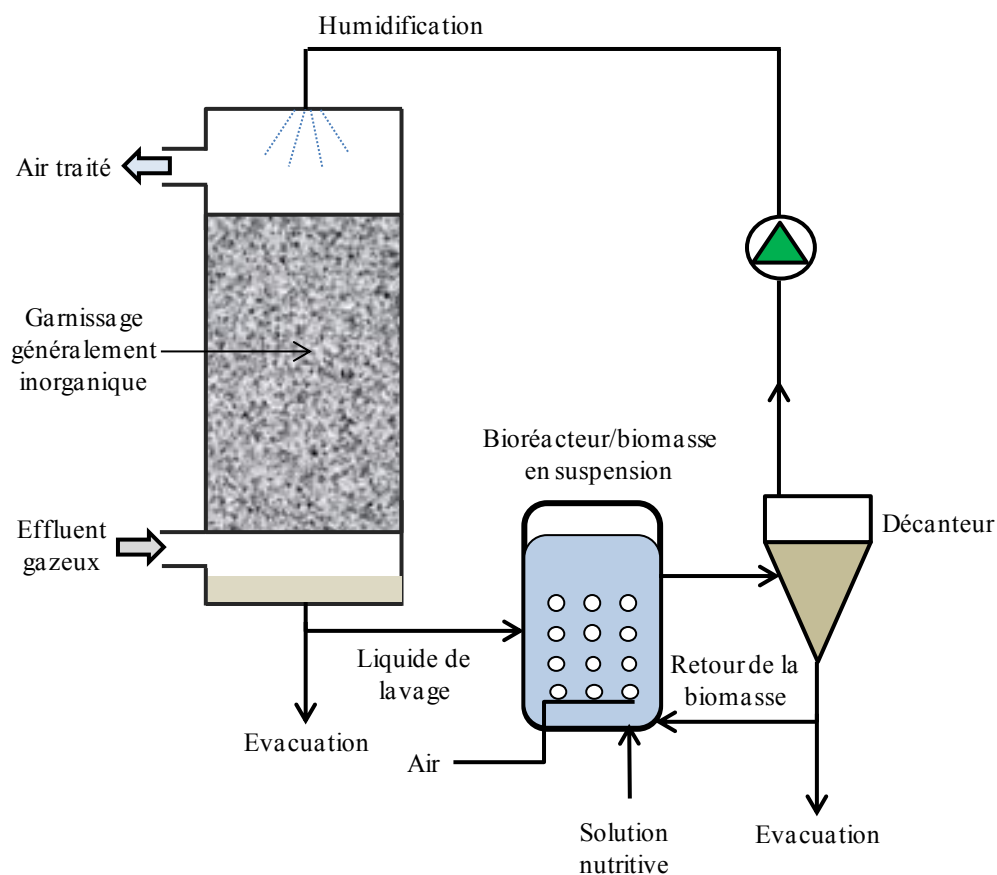


Figure 7 : Principe de fonctionnement d'un biolaveur.

Les deux étapes de transfert des polluants de la phase gazeuse dans la phase liquide et de dégradation de ces derniers sont réalisées dans deux compartiments différents (Thalasso et al., 1995) :

- Une tour de lavage permettant le transfert de masse du polluant de la phase gazeuse dans la phase liquide.
- Un réacteur biologique dans lequel les polluants, une fois transférés dans le liquide, sont consommés par la biomasse (Mudliar et al., 2010).

L'eau est généralement utilisée comme liquide de recirculation (Van Groenestijn et al., 1993) mais peut être remplacée par des émulsions eau/huiles minérales. Cette phase liquide circule en continu entre le réacteur biologique et la colonne d'absorption *via* un décanteur séparant la biomasse du liquide de lavage. La présence du décanteur n'est pas obligatoire mais son rôle permet de régénérer la phase liquide afin d'éviter l'accumulation de sous-produits

(potentiellement toxiques) et de biomasse (risque de colmatage) dans le liquide de lavage (Kennes et al., 2009).

L'inconvénient majeur de ce type de procédé est la production de boues excédentaires qu'il est nécessaire d'éliminer (Delhoménie et Heitz, 2005).

Ce procédé est particulièrement adapté au traitement de composés volatils très solubles dans l'eau (alcools, cétones) avec un coefficient de Henry (à température constante et à saturation, la quantité de gaz dissoute dans un liquide est proportionnelle à la pression de ce gaz exercée au dessus de ce liquide) relativement bas ($< 0,01$), et à des concentrations élevées pouvant atteindre 5 g.m^{-3} (Burgess et al., 2001 ; Delhoménie et Heitz, 2005).

1.5.3.3. Le filtre percolateur

Un filtre percolateur est un réacteur dans lequel la phase aqueuse est mobile et la biomasse immobilisée sur un support généralement constitué de matériaux synthétiques à fort degré de vide (anneaux de Raschig, de Pall, Tellerette, etc.). Les supports en vrac ou ordonnés peuvent être utilisés. L'absorption du polluant et la régénération de la phase liquide ont lieu dans le même réacteur (**figure 8**).

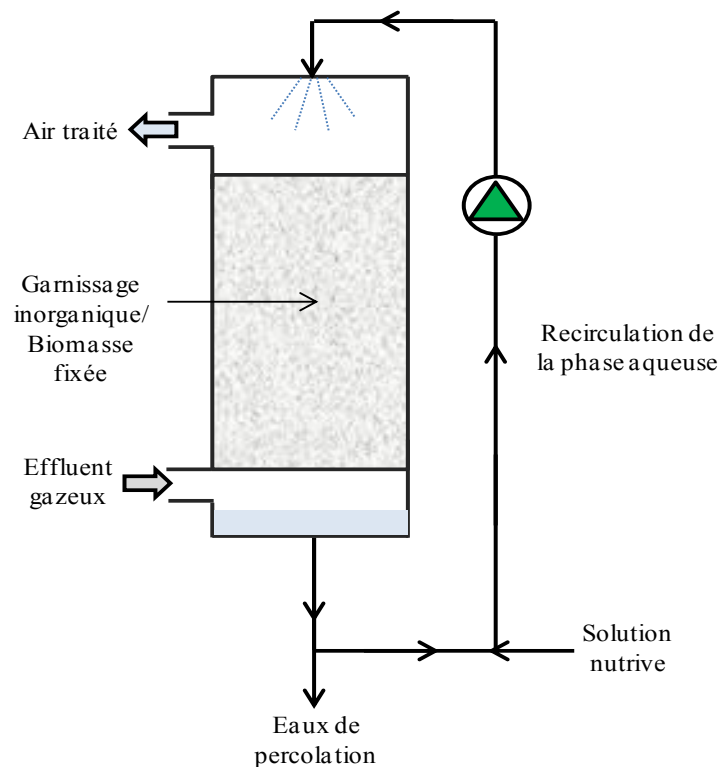


Figure 8 : Principe de fonctionnement du filtre percolateur.

Le garnissage étant inerte, un apport minéral dans la solution aqueuse est indispensable (N, P, K, et oligo-éléments) à la croissance et à l'activité de biodégradation des microorganismes (Cox et Deshusses, 1998 ; Mudliar et al., 2010).

Un lit bactérien peut fonctionner aussi bien à co qu'à contre-courant de la phase aqueuse, celle-ci étant introduite par le haut de la colonne et circulant par gravité. L'eau contenant les éléments nutritifs dissous est distribuée de manière continue et uniforme sur le garnissage. Cette phase liquide permet l'absorption des polluants présents dans l'effluent gazeux à traiter, de l'oxygène et leur transport jusqu'au biofilm où les molécules sont éliminées par des réactions biologiques aérobies. Ce type de procédé est plus récent que la biofiltration et adapté au traitement de polluants hydrophiles (Santos et al., 2007), à des concentrations de l'ordre du g.m^{-3} (Fanlo, 2005 ; Iranpour et al., 2005). De plus, le contrôle de certains paramètres opératoires (pH, nutriments) à travers la phase liquide (Delhoménie et Heitz, 2005 ; Iranpour et al., 2005) est facilité.

Le filtre percolateur, comparativement à la biofiltration, est peu utilisé sur le plan industriel. Néanmoins, des travaux menés à l'échelle du laboratoire (Tsang et al., 2008 ; Guang-hui et al., 2007 ; Kim et al., 2005) montrent que le filtre percolateur présente des potentialités prometteuses pour traiter des composés présentant une moyenne solubilité dans l'eau.

Toutefois, la formation de la biomasse sur le garnissage inerte doit être contrôlée pour limiter l'augmentation de pertes de charge et le risque de colmatage, à l'origine d'une augmentation des coûts énergétiques de fonctionnement (Fanlo, 2005). Pour pallier cet inconvénient, différents types de méthodes de contrôle de la biomasse sont envisageables (Song et Kinney, 2000 ; Cai et al., 2004 ; Van Groenestijn et Kraakman, 2005 ; Kim and Sorial, 2007 ; Kennes et al., 2009) :

- Agitation mécanique.
- Appauvrissement de la solution nutritive.
- Périodes de jeûne, lavage à contre courant.
- Alternance de flux ascendant et descendant.
- Ajout de fortes concentrations de sels, de biocides chimiques ou de prédateurs biologiques.

1.5.3.4. Le biofiltre

Cette technique consiste à forcer le passage du gaz à traiter au travers d'un matériau de garnissage (tourbe, compost, coquillage, etc.) humide sur lequel sont fixés les micro-organismes épurateurs (biofilm) (**figure 9**). La biofiltration est à ce jour la technique biologique ayant fait l'objet du plus grand nombre d'applications industrielles (Fanlo, 2005 ; Le Cloirec, 2006 ; Schulz, 2009).

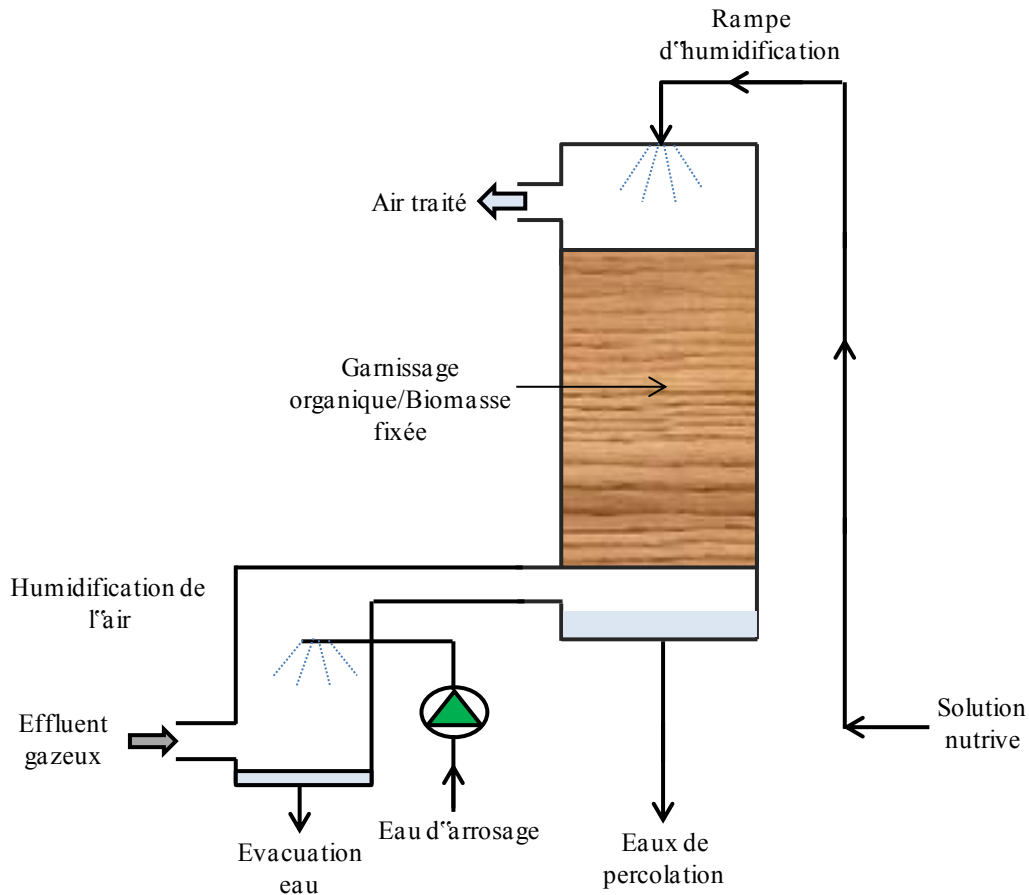


Figure 9 : Principe de fonctionnement d'un biofiltre.

La technique de biofiltration est une technique ancienne dont le principe a été appliqué au cours des années 1950 aux Etats-Unis dans le cadre de traitement d'effluent gazeux malodorants (Pomeroy, 1957 ; Fanlo, 2005). Elle est largement utilisée dans les années 1980-1990, notamment aux Pays-Bas et en Allemagne (Van Groenestijn et Kraakman, 2005).

Sur site industriel, la taille des biofiltres varie de 10 à 3000 m³, sur une hauteur de 0,5 à 2 m (Delhoménie et Heitz, 2005 ; Iranpour et al., 2005 ; Cabrol, 2010). Le temps de séjour du gaz

à traiter varie généralement de 30 à 120 s, avec une valeur standard de 60 s (Easter et al., 2005 ; Le Cloirec, 2006).

Les générations actuelles de biofiltres (biofiltres clos), qui remplacent largement les biofiltres ouverts, permettent d'obtenir des abattements importants, grâce à une meilleure maîtrise des paramètres opératoires et en particulier du taux d'humidité. La majorité des biofiltres installés sur site (78%) est utilisée pour le traitement de composés odorants, quelques unités (8%) sont mises en œuvre pour des traitements mixtes (COV, composés odorants) et d'autres (14%) pour le traitement exclusif de COV.

Du fait de l'humidification partielle des biofiltres, la biofiltration est particulièrement adaptée au traitement des composés hydrophobes tels que les Composés Soufrés Réduits (CSR), contrairement aux procédés biologiques caractérisés par une phase aqueuse mobile (Delhoménie et Heitz, 2005 ; Santos et al., 2007 ; Cabrol, 2011a).

La croissance des microorganismes sous forme de biofilm sur le garnissage généralement de nature organique (compost, fibre de coco, écorces de pin, etc.) confère des avantages par rapports aux systèmes planctoniques (Costerton et al., 1994 ; Lazaroova et Manem, 1995) :

- Densité locale de micro-organismes.
- Activité métabolique accrue.
- Protection contre des éléments toxiques ou inhibiteurs.

Ces biofilms (**figure 10**) sont des formations cellulaires hautement structurées, au sein desquelles des cellules microbiennes sont englobées dans une matrice complexe d'Exo-PolySaccharides (EPS). L'organisation, la forme, la densité de ces assemblages supra-cellulaires sont une réponse aux variations des conditions environnementales (Atlas et Bartha, 1997 ; Cohen, 2001 ; Tresse et al., 2003). La formation des biofilms constitue donc une stratégie privilégiée de survie développée par les microorganismes (Cresson, 2006). De plus la structure microporeuse du biofilm permet en outre d'évacuer les éventuels composés toxiques générés au cours de la dégradation (Møller et al., 1996 ; Tresse et al., 2003). La matrice EPS peut également constituer une source de carbone et d'énergie alternative en cas de limitation en substrat (Cabrol, 2010).

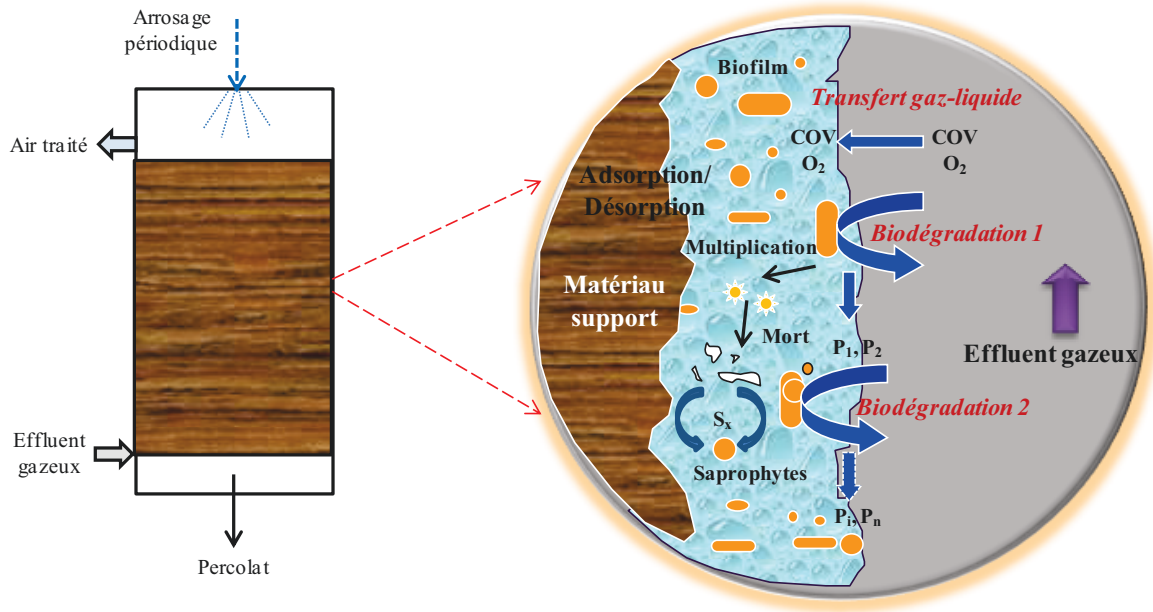


Figure 10 : Mécanismes de la biofiltration (Cabrol, 2010).

Les microorganismes impliqués dans la dégradation des composés malodorants sont essentiellement des bactéries. Des champignons filamenteux et des levures peuvent également utiliser ces composés comme source de carbone et d'énergie.

Généralement, les micro-organismes proviennent d'échantillons de biomasse prélevés sur des unités de traitement d'effluents urbains ou industriels comme par exemple les boues activés. Il s'agit en effet d'une source aisément disponible caractérisée par une grande diversité de micro-organismes (Cabrol et Malhautier, 2011b). L'adaptation préalable d'une microflore aux composés à dégrader peut permettre d'accélérer le démarrage du biofiltre (Leson and Smith, 1997).

1.5.4. Paramètres opératoires

Des paramètres opératoires sont à prendre en compte pour assurer un fonctionnement optimal de ces procédés biologiques. Les travaux étudiant l'influence de ces différents paramètres opératoires sur les performances de ces bioréacteurs se focalisent essentiellement sur la biofiltration qui a fait l'objet du plus grand nombre d'applications à l'heure actuelle.

1.5.4.1. Prétraitement du gaz

Le fonctionnement d'un procédé biologique peut être affecté par la présence de particules dans le gaz (poussières, graisses ou résines), à l'origine de problèmes de colmatage du matériau filtrant dans le cas du biofiltre ou du lit percolateur ou du système de distribution de gaz (Dharmavarani et al., 1993). Dans de tels cas, il est nécessaire d'envisager une préfiltration du gaz, plus particulièrement lorsque la concentration de poussières dépasse 10 à 20 mg.m⁻³.

1.5.4.2. Nature du matériau support

Dans le cas de la biofiltration, les caractéristiques du matériau support ont une influence sur les performances atteintes par le procédé et également sur les coûts d'investissement et de fonctionnement du biofiltre (Maestre et al., 2007 ; Gaudin et al., 2008). Une grande variété de matériaux de garnissage (tourbe, compost, boues granulaires, plaquettes papetières, écorces de pin, fibre de coco, roche volcanique, charbon actif, matériaux synthétiques) sont disponibles et leur influence sur les performances épuratoires a largement été démontrée à l'échelle du laboratoire (Wani et al, 1998 ; Barona et al, 2004 ; Ding et al, 2007 ; Maestre et al, 2007 ; Alvarez-Hornos et al, 2008). La nature du matériau de garnissage exerce également une influence sur la structure de la communauté, sa diversité et sa stabilité (Friedrich et al, 1999 ; Steele et al, 2005 ; Ding et al, 2008). Certains matériaux peuvent être associés en mélange pour combiner différents avantages : l'un apportant la diversité bactérienne et les nutriments, l'autre permettant une structuration du lit (écorces de pin, sphères de polystyrène) (van Groenestijn et Hesselink, 1993 ; Delhomenie et heitz, 2005 ; Malhautier et al., 2005 ; Mathur et al., 2007). L'influence du matériau sur le fonctionnement du biofiltre dépend de ses propriétés physico-chimiques et hydrodynamiques (Gadal-Mawart, 2012). Les principales caractéristiques à prendre en compte pour la sélection d'un support approprié sont :

- **la surface spécifique et la porosité** qui améliorent la surface d'échange entre la phase gazeuse et la phase liquide, et qui accroissent les possibilités de micro-niches (Cabrol et al., 2011a).
- **La colonisation endogène** qui fournit une source de biomasse initiale (Goving et Narayan, 2005 ; Shareefdeen et al., 2005). Celle-ci est en partie reliée à l'efficacité

d'élimination des polluants au sein du biofiltre et permet également une adaptation plus rapide de la communauté au gaz à traiter (Sakuma et al., 2006).

- **Le pH** qui doit être maintenu stable et à des conditions favorisant le développement des communautés bactériennes permettant la dégradation des polluants (Kim et al., 2000 ; Soupramanien et al., 2012). Il peut également influencer grandement la composition (structure/diversité) de la communauté bactérienne totale au sein du biofiltre (Friedrich et al., 1999 ; Soupramanien et al., 2012).
- **Le pouvoir tampon du matériau** permettant une meilleure régulation du pH et en diminuant les contraintes d'ajustement (Elias et al., 2002 ; Aizpuru et al., 2003). Ce critère paraît intéressant lorsqu'il s'agit de traiter des composés tels que l'hydrogène sulfuré et l'ammoniac dont la formation de sous-produits de dégradation induit une diminution du pH.
- **La capacité de rétention d'eau** permet de maintenir un taux d'humidité constant au sein du biofiltre favorable au développement du biofilm (Sun et al., 2002 ; Luo et Lindsey, 2006). Il permet également de réduire les fréquences d'arrosage nécessaires (Devinny et al., 1999 ; Aizpuru, 2001).
- **L'apport de nutriments** constitue une source d'énergie complémentaire pour la biomasse fixée (Malhautier et al., 2005), notamment les matériaux organiques et plus particulièrement les matériaux lignocellulosiques (Pineda et al., 2004). A l'échelle industrielle, les nutriments intrinsèques au matériau organique évitent l'addition régulière de nutriments externes (Goving et Narayan, 2005).
- **La capacité de sorption** : le stockage de substrats en excès et leur relargage en cas de limitation en substrat, améliorent la résistance aux perturbations (Wani et al., 1998 ; Chen et al., 2004).
- **les pertes de charge, la distribution des temps de séjour**
A l'heure actuelle, il est difficile de quantifier l'influence de chaque critère sur les performances du biofiltre, ces critères étant étroitement liés. En plus de ces

paramètres, les critères d'ordre économique sont également à considérer et plus particulièrement dans le cadre d'une application industrielle : coût et disponibilité locale ainsi que la durée de vie du matériau. Du fait du nombre de critères que doit satisfaire le matériau support et du petit nombre d'études qui abordent la question du choix du matériau, la sélection de ce dernier reste encore actuellement empirique (Gadal-Mawart, 2012).

1.5.4.3. Le contrôle du taux d'humidité

D'un point de vue biologique, l'humidité du lit fixe est l'un des paramètres les plus importants en biofiltration. Ainsi, Morales et al. (2003), ont rapporté que 75% des problèmes survenus en biofiltration sont liés à un mauvais contrôle du taux d'humidité. En effet, s'il est trop faible, le support se dessèche, ce qui est à l'origine de chemins préférentiels de circulation de l'effluent gazeux aboutissant à une perte des performances du biofiltre. De plus, des auteurs ont montré qu'après une longue période de sécheresse, des supports initialement hydrophiles comme la tourbe ou le compost deviennent progressivement hydrophobes et difficiles à humidifier (Sabo et al., 1993 ; Thompson et al., 1996). D'autre part, un taux d'humidité trop élevé conduit à la réduction de la surface spécifique disponible pour les échanges gaz/biofilm et au compactage du support ayant pour conséquences l'augmentation des pertes de charge et la création de zones anaérobies. Ottengraf (1986), suggère de maintenir le taux d'humidité du support entre 40 et 60%. Le taux d'humidité préconisé est généralement évalué à 50 à 60 % en poids du matériau filtrant (Devinny et al., 1999).

1.5.4.4. Température

L'intensité de l'activité microbienne dans un biofiltre dépend de la température. La plupart des populations microbiennes qui se développent au sein du support de biofiltration sont mésophiles (Kennes and Thalasso, 1998), ce qui implique que la gamme de températures préconisées se situe entre 15 et 30°C. La température du biofiltre est essentiellement imposée par la température du gaz à traiter ; à l'échelle industrielle, un gaz de process chaud (comme ceux issus des plateformes de compostage ou d'équarrissage) doit être refroidi avant l'entrée dans le biofiltre sous peine de voir diminuer les performances épuratoires du système (Fanlo, 2005).

1.5.4.5. pH

D'une manière générale, les micro-organismes requièrent pour leur développement un pH proche de la neutralité (Delhoménie et Heitz, 2005). En biofiltration, les supports organiques utilisés présentent généralement des pH compris entre 6 et 8 (Fanlo et al., 2006). En effet, le pH a une influence majeure sur les performances de biofiltration (Prado et al., 2006) car il conditionne l'état d'ionisation des solutés et leur taux de transfert et le développement de communautés microbiennes.

Si les différentes espèces microbiennes tolèrent de larges gammes de pH (entre 2 et 8), elles n'en sont pas moins sensibles aux variations (Fanlo et al., 2006). Les sous-produits issus de la biodégradation de polluants peuvent entraîner une acidification du milieu provoquant une diminution de la diversité microbienne (Sercu et al., 2005 ; Soupramanien et al., 2012). Le pH sert également d'indicateur de l'activité microbienne de dégradation des polluants (Soupramanien et al., 2012).

1.5.4.6. Nutriments

Les microorganismes sont essentiellement composés de carbone, d'oxygène, d'azote, d'hydrogène, de phosphore et de soufre (Scriban, 1993), il est donc nécessaire que ces éléments soient disponibles pour leur développement. Les polluants constituent la principale source de carbone. Les matériaux organiques peuvent également être source d'oligoéléments. A l'échelle industrielle, leurs présences limitent l'addition régulière de nutriments externes (Shareefdeen et al., 2005).

1.6. Applications des bioprocédés

Le traitement de déchets d'animaux génère des effluents gazeux malodorants à l'origine d'une nuisance odorante auprès des populations riveraines des installations. Les émissions odorantes d'un équarrissage, provenant du mélange des gaz de cuiseurs et de la ventilation des stockages et des ateliers, sont généralement sous la forme de buées. Un condenseur à ruissellement d'eau permet à la fois d'abaisser la température, de condenser les graisses, d'éliminer les poussières et de transférer une partie des composés solubles (ammoniac, amine, etc.) dans la phase liquide (aqueuse). Après cette étape, le traitement de ces effluents par biofiltration permet de dégrader les molécules soufrées, azotées ou oxygénées avant le rejet de l'air épuré dans l'atmosphère. Les pollutions induites (eaux de lavage) sont traitées par une solution adaptée (station de traitement des eaux usées) et le garnissage du biofiltre communément de nature organique (tourbe ou écorces) généralement renouvelé tous les deux à trois ans. Même si les procédés biologiques sont appropriés pour le traitement de telles émissions, les seuils de perception des composés odorants, et plus particulièrement ceux des composés soufrés (très bas), obligent à atteindre des efficacités d'abattement particulièrement élevées, faute de quoi le résiduel de concentration peut être à l'origine d'un impact notable sur les populations riveraines.

Par conséquent, les procédés biologiques font l'objet, ces dernières années, d'une recherche particulièrement active visant à améliorer l'efficacité de dégradation de ces Composés Soufrés Réduits (CSR). En effet, plusieurs auteurs (Rehman et al., 2009 ; Kennes et al., 2009 ; Chung et al., 2010 ; Legrand, 2011) ont étudié le traitement par biofiltration ou sur filtre percolateur (Chung et al., 2005 ; Ramirez et al., 2009 ; Arellano-Garcia et al., 2010) d'effluents gazeux soit mono-composé contenant de l'hydrogène sulfuré (H_2S) ou du diméthylsulfure (DMS) ou du diméthyldisulfure (DMDS) ou des mercaptans (méthyl et éthylmercaptans) en laboratoire et sur site industriel, soit complexe (mélange de CSR) (**figure 11 et 12**).

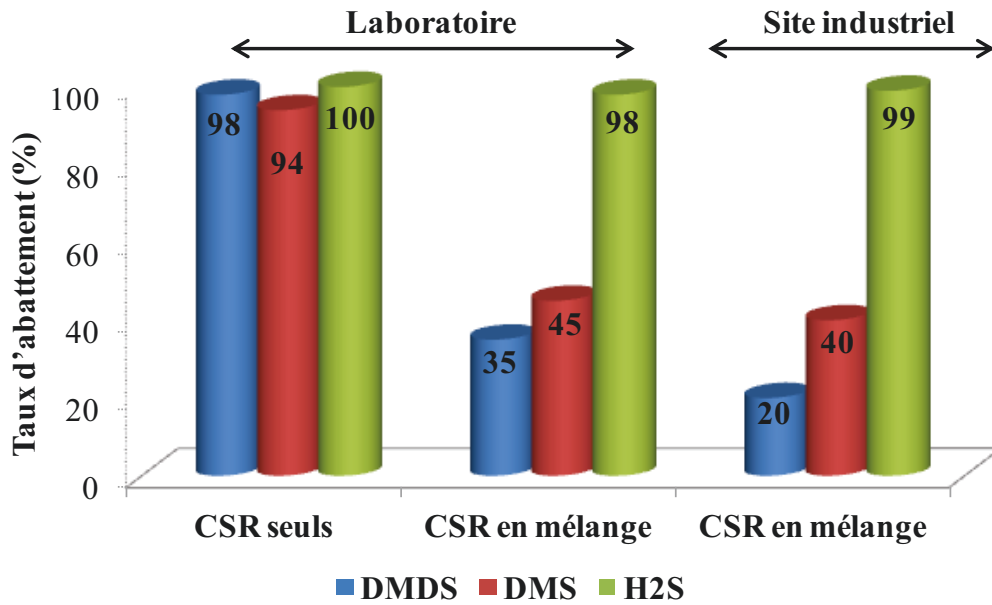


Figure 11 : Abattement de composés soufrés réduits seuls et en mélange par biofiltration à l'échelle du laboratoire (Rehman et al., 2009 ; Chung et al., 2010) et sur site industriel (compostage, équarrissage) (Iranpour et al., 2005).

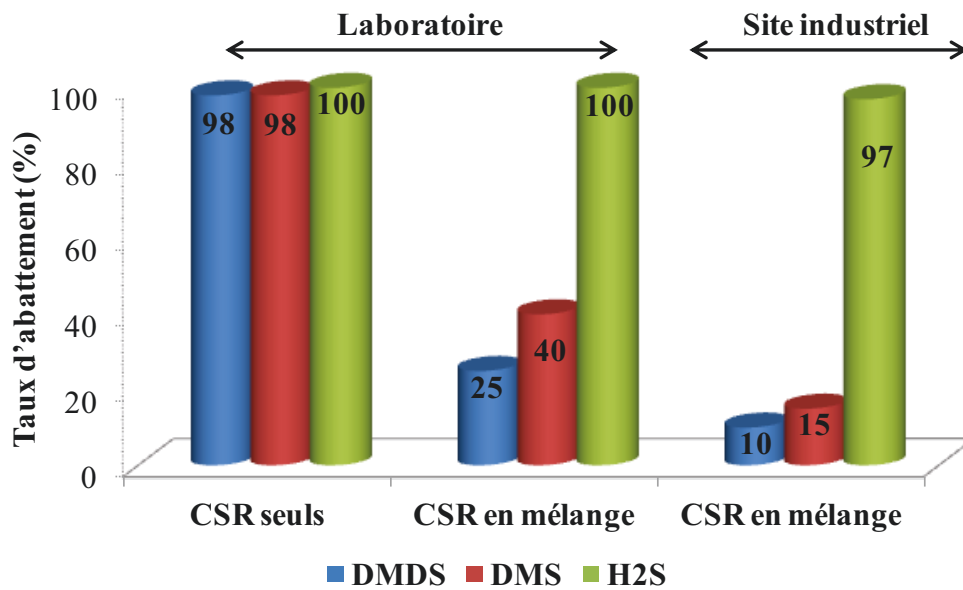


Figure 12 : Abattement de composés soufrés réduits seuls et en mélange par filtre percolateur à l'échelle du laboratoire (Ramirez et al., 2009 ; Arellano-Garcia et al., 2010) et sur site industriel (compostage, équarrissage) (Iranpour et al., 2005).

Au sein de réacteurs de laboratoire, les performances d'épuration de ces composés en système mono-polluant sont très élevées (de 98 à 100%).

Néanmoins, il convient de noter une difficulté à traiter certains CSR et plus particulièrement le DMS et le DMDS (efficacité d'élimination de l'ordre 60%) lorsqu'ils sont présents en mélange avec l' H_2S (Deshusses et al., 2000 ; Iranpour et al., 2005), autant en laboratoire que sur site industriel. Ainsi, les travaux menés sur le traitement biologique des composés soufrés réduits mettent en évidence des résultats plus contrastés en termes de performances de biofiltres ou de lits percolateurs.

D'après les données de la littérature (Tang et al., 2008 ; Jiang et al., 2009), l'activité de dégradation de la communauté bactérienne impliquée directement dans l'oxydation de ces composés semble être étroitement liée aux conditions environnementales (température, concentrations de polluants, pH, etc.) régnant au sein de ces systèmes biologiques. En effet, la dégradation de l' H_2S entrainerait une baisse du pH, à l'origine d'une inhibition du métabolisme des communautés bactériennes impliquées dans la dégradation du DMS et du DMDS.

Les filtres percolateurs sont en général une technologie plus complexe que les biofiltres, mais s'avèrent d'une plus grande efficacité. En effet, le contrôle des paramètres opératoires (pH, nutriments) est plus aisé que dans le cas des biofiltres (Delhoménie et Heitz, 2005 ; Iranpour et al., 2005), ce qui rend ces systèmes plus performants, même pour des applications difficiles :

- Composés faiblement biodégradables.
- Fortes concentrations.
- Gaz chauds.
- Gaz chargés en poussières.

Ainsi, si les opérations de conditionnement des gaz en amont s'avèrent souvent nécessaires sur un biofiltre (humidification, refroidissement ou chauffage, dépoussiérage), elles ne sont pas obligatoirement requises sur un filtre percolateur. La température du système peut être contrôlée par le débit d'eau circulant et les poussières ou fines particules sont évacuées par la purge.

Les filtres percolateurs ont révélé leurs potentialités pour le traitement de polluants produisant des métabolites acides, tels que H_2S ou des composés halogénés chlorés. L'introduction d'agents de neutralisation dans la solution d'arrosage permet en effet un contrôle continu du pH. Le **tableau 4** récapitule les avantages et inconvénients de ces deux procédés biologiques.

Tableau 4 : Avantages et inconvénients d'un filtre percolateur par rapport à un biofiltre (Delhoménie et Heitz, 2005).

Procédé biologique	Avantages	Inconvénients
Biofiltre	<ul style="list-style-type: none"> Faibles coûts d'investissement et de fonctionnement Simplicité de mise en œuvre Bonne capacité d'épuration à faibles concentrations de polluants Pas d'effluents liquides générés 	<ul style="list-style-type: none"> Installations de grande taille Remplacement du média filtrant tous les 2 à 5 ans performances moindres dans le cadre du traitement de concentrations élevées en polluants Humidité et pH plutôt difficiles à contrôler Risque de colmatage par des fines particules
Filtre percolateur	<ul style="list-style-type: none"> Coûts de fonctionnement faibles Bonnes capacités d'épuration, même à fortes concentrations Traitement efficace de composés acides grâce au contrôle de pH 	<ul style="list-style-type: none"> coûts d'investissement plus élevés Equipement et maintenance plus complexes Risque de colmatage du garnissage résultant d'un excès de nutriments ou lors du traitement de gaz contenant de fortes concentrations en polluants

1.7. La dégradation biologique des Composés soufrés réduits

Les CSR sont présents dans l'environnement et interviennent au niveau des cycles biogéochimiques de la matière. Ces composés peuvent être oxydés biologiquement en aérobiose comme en anaérobiose (Smet et al., 1999). En effet, les bactéries oxydant les sulfures utilisent des composés soufrés réduits (CSR) comme source de carbone et d'énergie. Ces bactéries vont pouvoir, par l'intermédiaire de voies métaboliques aérobies, oxyder les sulfures pour produire du soufre et des sulfates (Le Cloirec et al., 2004).

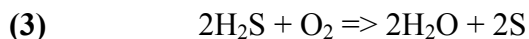
Dans le cadre cette étude, les voies de dégradation des microorganismes intervenant dans la dégradation des CSR et se développant dans des conditions aérobies feront l'objet d'une attention particulière.

1.7.1. Le cycle du soufre

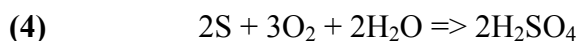
Le soufre se trouve sur Terre dans des dépôts volcaniques (soufre natif) et dans des roches sédimentaires (gypse, sulfures métalliques, gisements de sulfates, etc.). Le cycle du soufre est un cycle biogéochimique majeur au sein duquel interviennent des bactéries anaérobies et aérobies. La fermentation anaérobie du soufre permet de convertir les composés organiques du soufre en H_2S . Des bactéries aérobies peuvent oxyder l' H_2S en soufre et en acide sulfurique. Ces transformations biologiques sont réalisées

➤ Soit par des réactions d'oxydation-réduction. Les populations identifiées sont :

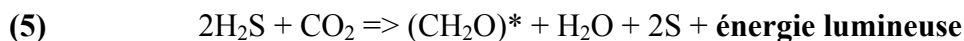
- ✓ Les genres *Beggiatoa* ou *Thiothrix* (Güde et al., 1981 ; Nelson et al., 1983 ; Tang et al., 2008) à l'origine de la formation de soufre (**Eq.3**) :



- ✓ Le genre *Thiobacillus* (*Protobacteriaceae* γ) (Katayama-Fujimura et al., 1983 ; Tang et al., 2008) qui oxyde le soufre en acide sulfurique (**Eq.4**) :



- Soit par réaction de photosynthèse réalisée par *Rhodothiobacteriaceae* et *Chlorothiobactériaceae* (Pelmont, 1993 ; Brune et al., 2000 ; Tang et al., 2008) à l'origine de la formation de soufre (Eq.5) :



1.7.2. Dégradation biologique de l'hydrogène sulfuré

Il existe plusieurs genres bactériens connus pour intervenir dans la dégradation de l' H_2S , le plus connu étant le genre *Thiobacillus* (Cho et al., 1991 ; Bonnin et al., 1994). Ce sont des microorganismes autotrophes qui oxydent l' H_2S en S^0 ou en SO_4^{2-} (Chung et al., 1996). Généralement, il n'est pas indispensable d'inoculer le matériau support avec des microorganismes spécialisés dans la dégradation de ce composé, en raison d'une présence ubiquitaire de *Thiobacillus sp.* dans l'environnement (Herrygers et al., 2000).

L'oxydation de l' H_2S peut s'effectuer sur une large gamme de pH (entre 1 et 8), incluant à la fois des microorganismes acidophiles ou neutrophiles (Kelly et al., 1989 ; Kasakura et al., 1995). D'autres genres bactériens tels que *Xantomonas* ou *Methylophaga* sont aussi connus pour dégrader cette molécule (Ruokojärvi et al., 2001).

De plus, il convient de noter que les bactéries intervenant dans la dégradation biologique de l' H_2S ne sont pas affectées par la présence d'autres composés soufrés lorsqu'ils sont en mélange (Zhang et al., 1991 ; Iranpour et al., 2005 ; Chung et al., 2010).

1.7.3. Dégradation biologiques des composés soufrés réduits (CSR)

Parmi les composés soufrés, on trouve des composés volatils à un atome de carbone (Méthanethiol (MT) ; disulfure de carbone) ou à deux atomes de carbone (Diméthylsulfure (DMS) ; Diméthyldisulfure (DMDS)) (Le Cloirec et al., 2004). Ces molécules sont généralement plus difficilement biodégradables que l' H_2S (Ruokojärvi et al., 2001).

Leur traitement biologique fait intervenir des réactions aérobies.

En effet, en présence d'oxygène, les CSR tels que le DMS ou DMDS sont des substrats énergétiques pour des bactéries du genre *Thiobacillus*, *Hyphomicrobium* ou encore

Xanthomonas (Reichert et al., 1998 ; Smet et al., 1998 ; Le Cloirec et al., 2004). Ces genres appartiennent à des groupes trophiques différents, soit méthylotrophe comme *Hyphomicrobium* sp. ou hétérotrophe comme *Pseudonocardia asaccharolytica* ou *Xanthomonas* sp. (Legrand, 2011).

Les voies de dégradation du DMS et du DMDS (**figure 13**) sont réalisées par des réactions successives de déméthylation, conduisant à la formation d' H_2SO_4 et de CO_2 (Kelly et Smith, 1990 ; Visscher et al., 1993 ; Sercu et al., 2006 ; Ito et al., 2007 ; Zhang et al., 2007 ; Schäfer et al., 2010).

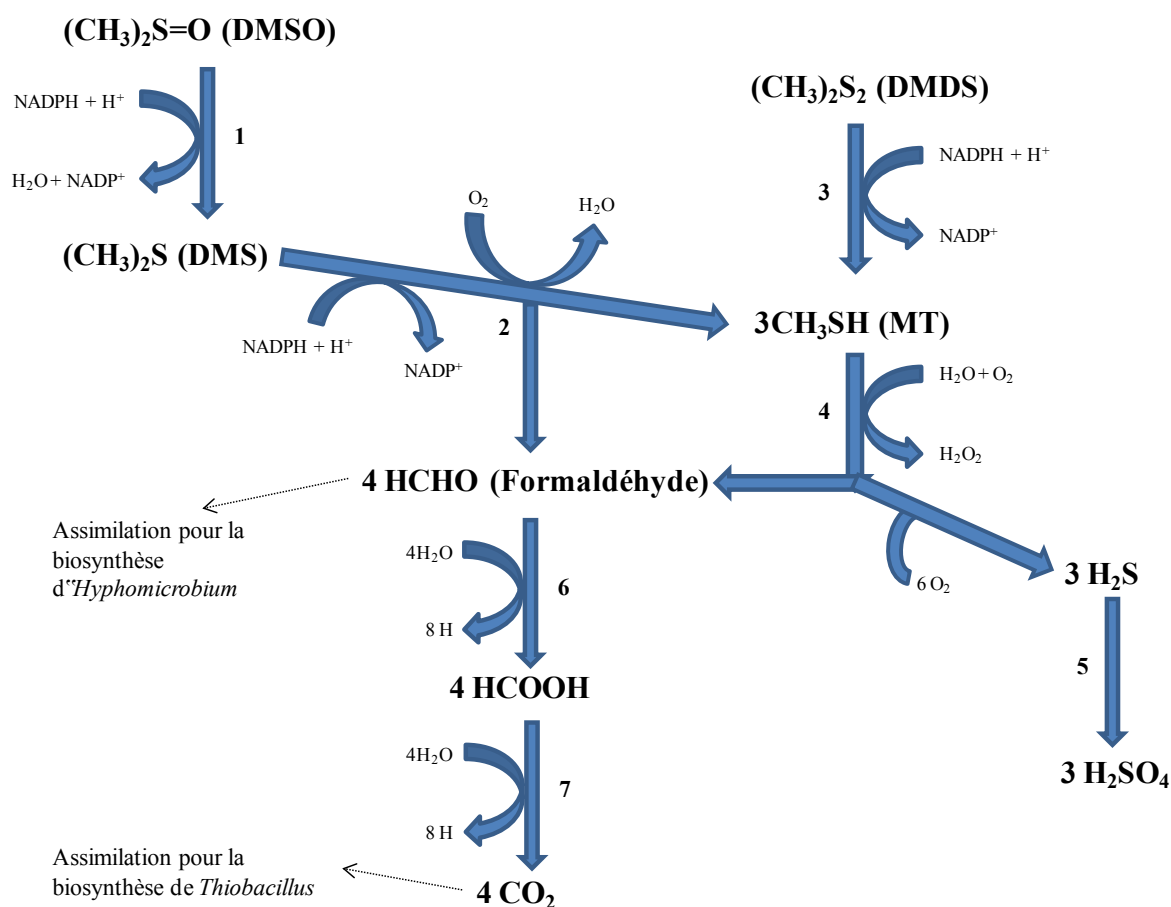


Figure 13 : Voies métaboliques de dégradation du DMS, DMDS (d'après Smith et Kelly, 1998 ; Friedrich et al., 2001 ; Schäfer et al., 2010).

1 : DMSO réductase ; 2 : DMS monooxygénase ; 3 : DMDS réductase ; 4 : MT oxydase ; 5 : Sulfate thiol estérase ; 6 : Oxydation du formaldéhyde (différents types d'enzymes) ; 7 : Formate déshydrogénase.

Cependant, il convient de noter que les gènes codant pour les enzymes clés des voies métaboliques des DMS et DMDS n'ont pas été clairement identifiés (Schäfer, 2007).

La méthyl mercaptan oxydase (enzyme membranaire) a été isolée chez *Thiobacillus thioparus* (Gould et al., 1991). L'étude *in vitro* de cette enzyme purifiée a montré qu'en présence de DMS, la quantité de protéine augmente, mais que l'activité enzymatique est inhibée en présence d'H₂S, de MT ou de sels d'ammonium.

Récemment, l'enzyme DMS monooxygénase provenant d'*Hyphomicrobium sulfonivorans* a été purifiée (Boden et al., 2011).

Généralement, *Thiobacillus thioparus* et *Hyphomicrobium sp.* sont utilisés comme inoculum de procédés biologiques de traitements d'effluents gazeux chargés en composés soufrés tels que le DMS ou DMDS (échelle laboratoire) (Smet et al., 1996 ; Sercu et al., 2005 ; Sercu et al., 2006).

Néanmoins, l'étude de la dynamique temporelle de la communauté microbienne met en évidence que la communauté bactérienne qui s'implante dans le réacteur est éloignée de l'inoculum de départ. En effet, les espèces bactériennes *Hyphomicrobium sp.* et *Thiobacillus thioparus* majoritaires en début d'expérience deviennent progressivement minoritaires (Sercu et al., 2006) au profit d'autres populations bactériennes émergentes si leur croissance est favorisée par les conditions opératoires du réacteur (Legrand, 2011).

1.8. Conclusion et stratégie de recherche

L'activité du secteur industriel de la gestion et du traitement des déchets induit l'émission d'effluents gazeux malodorants à l'origine de nuisances odorantes auprès des populations riveraines des installations. Dans un environnement toujours plus sensible, ces nuisances odorantes doivent être impérativement réduites. Même si les procédés biologiques sont appropriés pour le traitement de telles émissions, les seuils de perception des composés odorants et plus particulièrement ceux des composés soufrés, très bas, obligent à atteindre des efficacités d'abattement particulièrement élevées, faute de quoi le résiduel de concentration peut être à l'origine d'un impact notable sur les populations riveraines.

Les procédés biologiques font l'objet, ces dernières années, d'une recherche particulièrement active visant à améliorer l'efficacité d'élimination de ces Composés Soufrés. En effet, plusieurs auteurs (Sercu et al., 2005 ; Syed et al., 2006 ; Ramirez et al., 2009 ; Legrand, 2011) ont étudié le traitement par biofiltration ou sur filtre percolateur d'effluents mono-composé contenant de l'hydrogène sulfuré (H_2S) ou du diméthylsulfure (DMS) ou du diméthyldisulfure (DMDS) ou des mercaptans (méthyl et éthylmercaptans). Les performances d'épuration de ces composés en système mono-polluant sont très élevées, ces composés étant, dans la majorité des cas, totalement éliminés au sein de ces réacteurs.

Néanmoins, une des limitations de ces bioprocédés réside toutefois dans la difficulté à éliminer des composés récalcitrants tels que les DiMéthylSulfure (DMS) et DiMéthylDiSulfure (DMDS) (taux d'abattement de l'ordre 20 - 45%) lorsqu'ils sont présents en mélange avec d'autres composés soufrés ou azotés ou oxygénés plus facilement assimilables par la biomasse (Deshusses et al., 2000). D'après la littérature (Tang et al., 2008 ; Jiang et al., 2009), l'activité de dégradation de la communauté bactérienne impliquée directement dans l'oxydation de ces composés difficilement biodégradables (DMS et DMDS) semble être étroitement liée aux conditions environnementales régnant au sein de ces systèmes biologiques. En effet, la diminution du pH de la phase aqueuse induirait une inhibition du métabolisme des communautés bactériennes impliquées dans la dégradation du DMS et du DMDS.

Pour pallier cette limitation des bioprocédés, le traitement de telles émissions peut être envisagé sous l'angle de la mise en œuvre de filières de traitement. La solution la plus utilisée

à l'heure actuelle consiste à coupler la biofiltration à du lavage physico-chimique. Néanmoins, ce couplage de procédés n'est parfois pas suffisant pour atteindre des performances de traitement totalement satisfaisantes. De plus, la filière biofiltration/lavage physico-chimique induit des risques liés à l'utilisation et au stockage de produits chimiques dangereux, génère des effluents liquides nécessitant des traitements adaptés, et conduit à des coûts de fonctionnement élevés.

L'objectif de cette étude est d'évaluer les potentialités du couplage de deux procédés biologiques que sont le biofiltre et le lit percolateur mis en œuvre pour traiter un mélange de composés soufrés, différant par leur biodégradabilité. Celle-ci sera menée en condition stationnaire et perturbée afin de prendre en considération la variabilité de la charge polluante observée sur site industriel.

La synthèse bibliographique a conduit à définir une méthodologie dont les principales caractéristiques sont les suivantes : l'alimentation des unités pilotes par un effluent gazeux synthétique constitué d'un mélange de composés soufrés, la mise en œuvre de systèmes pilotes les plus représentatifs possibles des bioprocédés installés sur site, l'utilisation de systèmes répliqués et des contrôles.

Les objectifs de ce travail de thèse se déclinent comme suit :

- **Ajustement méthodologique**

- ✓ Quel est l'impact des conditions environnementales et plus particulièrement du pH sur les niveaux d'abattement de composés soufrés en mélange et la structure des communautés microbiennes ?

- **Conditions stationnaires**

- ✓ Quels gains de performance attendre d'un couplage de deux procédés biologiques (lit percolateur/biofiltre) par rapport à un biofiltre seul ?
- ✓ A l'état stationnaire, quelles relations s'établissent entre l'activité de dégradation des polluants, les niveaux de densité et la structure de la communauté bactérienne totale ?
- ✓ Quel est l'impact du fonctionnement de ces systèmes sur des populations fonctionnelles d'intérêt (densités de peuplement) ?

- **Conditions perturbées**

- ✓ Quel est le niveau de robustesse du couplage de deux bioprocédés par rapport à un biofiltre seul ?
- ✓ Quelle est la réponse de populations fonctionnelles d'intérêt (densités de peuplement) à l'application de pics de charge ?
- ✓ Jusqu'à quel point peut-on valider les résultats expérimentaux obtenus à l'échelle du laboratoire sur site industriel, les systèmes pilotes étant alimentés dans ce cas par un effluent gazeux complexe ?

Chapitre 2 :

Etude de l'influence du pH sur l'abattement de composés soufrés en mélange

2.1. Introduction

Les composés soufrés réduits (CSR) tel que le diméthyl sulfure (DMS), le méthyl mercaptan (MT) ou le diméthyl disulfure (DMDS) sont des composés récalcitrants plus difficilement biodégradables que l'hydrogène sulfuré (H_2S) (Ruokojärvi et al., 2001). L'oxydation biologique de ces CSR est réalisée par des Bactéries Sulfo-Oxydantes (SOB) appartenant généralement à des groupes trophiques soit autotrophes (*Thiobacillus*, *Acidithiobacillus*), méthylotrophes (*Hyphomicrobium*), ou hétérotrophes (*Xanthomonas*), le plus étudié étant le genre *Thiobacillus* (Zhang et al., 2007 ; Tang et al., 2008).

Il convient de noter une difficulté à traiter certains CSR et plus particulièrement le DMS et le DMDS (efficacité d'élimination de l'ordre 50%) lorsqu'ils sont présents en mélange avec l' H_2S (Deshusses et al., 2000).

D'après la littérature, les communautés bactériennes oxydant les CSR sont sensibles aux conditions environnementales en général et au pH en particulier (Sercu et al., 2006). En effet le pH de la phase aqueuse a un impact sur les performances épuratoires du biofiltre, car il conditionne l'état d'ionisation des solutés (composés organiques) et leur taux de transfert, ainsi que le développement des communautés microbiennes (Prado et al., 2006). L'accumulation de sous-produits de dégradation est à l'origine d'une déstabilisation du pH et conduit à une diminution de l'activité des populations microbiennes intervenant dans la dégradation des CSR (Sercu et al., 2005).

Le plus souvent en biofiltration, les matériaux supports sontensemencés par des communautés microbiennes diverses et non spécifiques, telles que celles rencontrées dans les boues de station d'épuration et qui se spécialiseront au cours du fonctionnement du biofiltre (Cabrol, 2010). A ce titre, l'inoculation peut être un paramètre opératoire important, permettant d'améliorer le fonctionnement de ces procédés biologiques. Les travaux de Boon et al., (2003) ont montré qu'une communauté acclimatée peut s'avérer bénéfique pour la dégradation de composés récalcitrants.

Dans ce chapitre, nous étudierons, dans un premier temps, l'impact du pH sur l'activité de dégradation de composés soufrés en mélange (H_2S , DMS et DMDS). Il s'agira de déterminer les valeurs de pH pour lesquelles la dégradation biologique de ces composés soufrés est observée. Des microcosmes, dont les conditions opératoires sont contrôlées, seront mis en œuvre pour répondre à ce questionnement. Une communauté préalablement acclimatée aux composés soufrés sera utilisée comme inoculum.

Dans un second temps, nous examinerons la structure des communautés microbiennes au sein de ces modèles d'étude et identifierons les microorganismes dominants. Le lien entre leur présence et leur capacité à consommer les CSR sera alors évalué.

2.2. Matériel et méthodes

2.2.1. Génération de l'effluent gazeux synthétique

Les molécules modèles retenues pour cette étude sont l'hydrogène sulfuré (H_2S), le diméthylsulfure (DMS) et le diméthyldisulfure (DMDS). Ces trois composés ont été générés de la façon suivante (**figure 14**) :

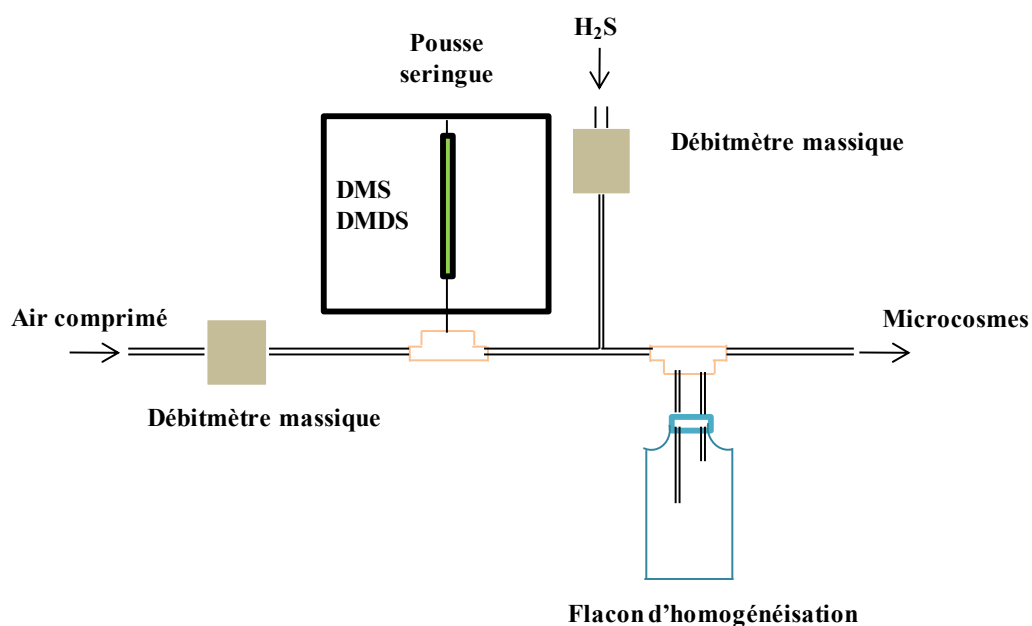


Figure 14 : Système de génération de l'effluent gazeux synthétique.

Le DMS et DMDS (pureté $> 99\%$, VWR, West Chester, PA, USA) sous forme liquide sont volatilisés au moyen d'un pousse-seringue (Precidor, Infors AG, Basel, Suisse) dans un flux d'air comprimé ($5 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$). L' H_2S est directement injecté dans le flux d'air comprimé à l'aide d'un débitmètre massique (Mass Flow Controller Model 5850TR, Brooks Instrument, Hatfield, PA, USA) calibré à $0,35 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$. L'effluent gazeux est ensuite homogénéisé *via* un flacon de 500 mL avant d'alimenter les microcosmes. La concentration de chaque composé soufré dans l'effluent gazeux synthétique est de $100 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$.

2.2.2. Dispositif expérimental : les microcosmes

L'effluent gazeux filtré alimente (**figure 15**) en continu des flacons de verre de 1 L (microcosmes), à un débit de $100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ et contenant 1 L de suspension bactérienne dans un milieu minéral (HCMM3, **annexe 1**) composé uniquement des sels minéraux nécessaires au développement de la biomasse. Chaque microcosme est agité à $130 \text{ tr} \cdot \text{min}^{-1}$ de manière à augmenter la surface de contact air/liquide, et placé dans une enceinte thermostatée à 30°C .

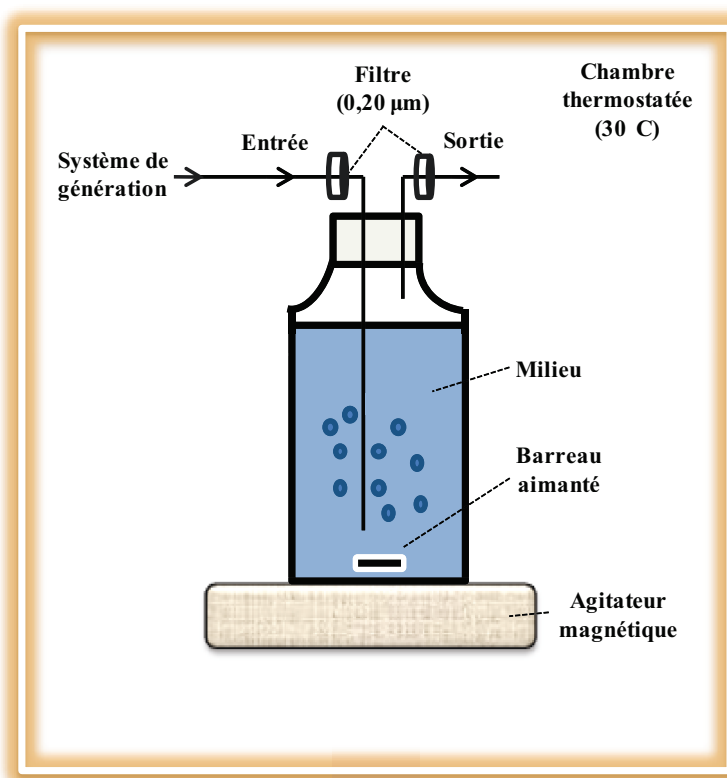


Figure 15 : Présentation d'un microcosme.

Deux expériences (**E1** et **E2**) ont été réalisées. Une série de quatre microcosmes a été mise en œuvre et dupliquée pour chaque expérience (**E1.1**, **E1.2** ; **E2.1**, **E2.2**). Au démarrage de chaque expérience, le pH de la phase liquide des microcosmes est ajusté à 7. Dès le début de l'essai et pour chaque microcosme, le pH de la phase liquide est mesuré hebdomadairement et ajusté à une valeur définie au début de l'expérience (7, 5, 3 ou 1) avec une solution d'hydroxyde de sodium (5N).

Deux contrôles sont également mis en œuvre : un microcosme non inoculé et un autre alimenté uniquement avec de l'air comprimé. Le pH de la phase liquide de ces microcosmes témoins est ajusté à la neutralité.

L'inoculum utilisé provient des eaux de lavage (nettoyage des cuiseurs, stérilisateurs, etc...) après dégraissage (sans poussières et grosses particules de l'ordre du μm) d'un centre d'équarrissage (ATEMAX et SOLEVAL Sud-Est) situé à Viriat dans l'Ain. Ces eaux de lavage sont stockées dans des bacs de rétention. Cet inoculum contient également du soufre élémentaire recueilli sur les parois de ces bacs de rétention. L'inoculum est composé de 25 mL d'eaux de lavage et de 11 mL d'une suspension aqueuse contenant du soufre. La composition du milieu minéral HCMM3 utilisé pour la croissance et le développement des microorganismes est décrite en **annexe 1**.

2.2.3. Analyses physico-chimiques

2.2.3.1. Analyse de la phase gazeuse

Les concentrations des CSR sont mesurées quotidiennement en entrée et sortie de chaque bioréacteur au moyen :

- D'un chromatographe en phase gazeuse équipé d'un détecteur à photo-ionisation (PID) (HNU Systems Model 311, Newton, MA, USA) et d'une colonne spécifique à l'analyse de l'hydrogène sulfuré. Le seuil de détection est de 1 mg.m^{-3} .
- D'un chromatographe en phase gazeuse équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) ((Trace, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA) et d'une colonne capillaire Equity-1 (Sigma Aldrich, St Louis, USA) de 30 m de long, de 0,32 mm de diamètre interne et de $0,25 \mu\text{m}$ d'épaisseur de film pour les analyses de DMS et DMDS. Le seuil de détection le plus bas obtenue pour le DMS et DMDS est de l'ordre du mg.m^{-3} .

Les conditions analytiques sont données dans le **tableau 5** ci-dessous.

Tableau 5 : Conditions analytiques du GC-FID et du GC-PID.

	Injecteur	Four et colonne chromatographique	Détecteur
FID	Température : 100°C	Isotherme 50°C 5 min Débit He (gaz vecteur) : 2 mL.min ⁻¹	Température : 220°C Débit air : 350 mL.min ⁻¹ Débit H ₂ : 35 mL.min ⁻¹ Débit N ₂ : 30 mL.min ⁻¹
PID	Température : 120°C	Isotherme 80°C Débit N ₂ (gaz vecteur) : 15 mL.min ⁻¹	Température : 200°C

Des droites d'étalonnage de chaque composé ont été réalisées (**annexe 2**).

L'efficacité d'élimination (EE) des CSR par le bioréacteur est estimée, à partir des concentrations mesurées en entrée (C_e) et sortie (C_s) de chaque microcosme selon **l'équation 6** :

$$(6) \quad EE (\%) = \frac{C_e - C_s}{C_e} \times 100$$

2.2.3.2. Suivi du pH de chaque microcosme

Un échantillon de 10 mL de liquide est prélevé dans chaque microcosme de manière hebdomadaire afin d'évaluer le pH de la solution aqueuse. Celui-ci est ensuite ajusté à une valeur définie au début de l'expérience (pH 7, 5, 3, 1).

2.2.3.3. Analyse microbiologique par PCR-DGGE

- **Extraction de l'ADN génomique**

Un volume de 200 mL de suspension aqueuse de chaque microcosme est prélevé et centrifugé à 10000 tr.min⁻¹ pendant 15 min. La quantité de chaque culot récupérée pour les extractions et

la quantité finale d'ADN a été calibrée pour chaque microcosme (200 à 350 mg de culot, 50 μ L d'ADN extrait). L'ADN génomique est extrait à l'aide d'un kit FastDNAR (MP Biomedicals, Irvine, CA, USA) selon les recommandations du fournisseur. L'ADN extrait (5-7 μ L) est visualisé par électrophorèse sur gel d'agarose 1%, puis quantifié par mesure de l'absorbance à 260 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Multiscan Spectrum Spectrophotomètre, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA).

- **Amplification de l'ADN par PCR (réaction de polymérisation en chaîne)**

La région V3 du gène ARNr-16S des eubactéries (196 pb, correspondant à la position F337-R533 chez *Escherichia Coli*) est amplifiée à l'aide d'amorces spécifiques V3F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') et V3R (5'-ATTACCGCGGCTGCTGGCAC-3') (Muyzer et al., 1993). Une séquence (40-base) GC-Clamp est intégrée en 5' de l'amorce V3F. L'amplification est réalisée à partir d'environ 100 ng d'ADN (~ 1 à 2 μ L) dans un volume final de 50 μ L contenant 0,6 μ mol.L⁻¹ de chaque amorce (Sigma-Aldrich), 0,2 mM de dNTP mix (0,05 mM de chaque dNTP, Bioline, Londres, UK), 2,5 mM de MgCl₂, 5 μ L de 10X Thermo-Start™ PCR Buffer et 1,75 U de Thermo-Start™ Taq DNA polymérase (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). La PCR est réalisée dans un thermocycler Tpersonal (Biometra, Goettingen, Allemagne) selon le protocole décrit dans le **tableau 6** :

Tableau 6 : Conditions opératoires de la PCR.

Etape	Durée	Température
Dénaturation initiale	18 min	95°C
Nombres de cycles		30
Dénaturation	30 sec	94°C
Hybridation	30 sec	68°C
Elongation	45 sec	72°C
Elongation finale	7 min	72°C

Les produits PCR sont visualisés par électrophorèse sur gel d'agarose à 2% puis quantifiés par absorbance à 535 nm après une coloration au PicoGreen (Quant-IT ds DNA HS reagent, Invitrogen, OR, USA).

- **Gel d'électrophorèse en gradient dénaturant (DGGE)**

La DGGE est réalisée avec un système Ingeny phor U-2 (Ingeny, Goes, Pays-Bas) selon le protocole de Muyzer et al., (1993), en utilisant des gels de polyacrylamide 8% préparés avec un gradient dénaturant de 43% à 63%. Ce gradient dénaturant est obtenu à partir d'une solution à 100% d'agent dénaturant contenant une concentration de 7 M d'urée et de 40% v/v de formamide. Des échantillons de 500 ng de produits PCR sont déposés dans chaque puits. Le marqueur de taille utilisé a été mis au point au laboratoire Génie de l'Environnement et des Risques Industriels (LGEI) à partir d'ADN bactérien des souches suivantes :

- *Pseudomonas aeruginosa* (LGEI, Ecole des Mines d'Alès, France).
- *Escherichia Coli* (LGEI, Ecole des Mines d'Alès, France).
- *Thiobacillus thiooxydans* (LGEI, Ecole des Mines d'Alès, France).
- *Nitrosomonas europaea* ((Veolia Environnement Recherche & Innovation, Maison Laffite, France).
- *Xanthobacter autotrophicus* (Institut Pasteur, Paris, France).

La migration s'effectue dans un tampon 1X TAE durant 16 h à 60°C. La tension appliquée est de 100 V. Les gels DGGE sont ensuite colorés au Sybr green I (Invitrogen, Carlsbad, NM, USA), rincés puis photographiés sur une table UV, à une longueur d'onde de 520 nm à l'aide du dispositif Quantum ST4-1100 (Vilber Lourmat, Marne la Vallée, France).

- **Clonage et séquençage**

L'analyse du gel DGGE a permis de sélectionner des bandes d'intérêt. L'ADN est excisé du gel de polyacrylamide en plaçant la portion de gel contenant l'ADN dans des tubes Eppendorf stérile contenant 25 µL d'eau ultra pure à 4°C. L'ADN contenu dans chaque bande est ensuite amplifié par PCR à partir du couple d'amorces M13 (M13R : 5'-CAGGAAACAGCTATGACGGGCGGGGCGGGGCGACGGGGGACTCCTACGGGAGG CAGCAG-3', et M13F : 5'-GTAAAACGACGGCCAGTAAATAAAATAAAATGTAAAAAATTACCGCGGCTGCT GGCAC-3') (Introvigen, Pays-Bas). Les produits PCR ont été ensuite clonés en utilisant le kit TOPO TA cloning (Introvigen, Pays-Bas) selon les consignes du fournisseur.

2.2.3.4. Analyse des profils DGGE

La richesse est définie par rapport au nombre de bandes visualisées sur le profil DGGE. La diversité globale de la communauté correspondant à chaque échantillon est évaluée à partir de l'indice de Shannon I (Eq. 7) qui prend en compte à la fois le nombre de bandes présentes sur le gel DGGE et leur intensité relative selon la formule suivante :

$$(7) \quad I = - \sum_i^n p_i * \log(p_i)$$

(p_i est l'abondance relative de la bande i)

Après exclusion des groupes les plus rares (moins de 3% d'intensité relative dans tous les échantillons), les données initiales de la matrice (intensités relatives en fonction de la position) ont été normalisées (Saison et al., 2006). La matrice de similarité a été générée avec le logiciel GelCompar v6.5. Le dendrogramme est construit selon la méthode UPGMA à partir de la matrice des similarités calculées par l'indice de Bray-Curtis (Eq. 8) défini ci-dessous :

$$(8) \quad S_{ij} = 1 - \sum_{k=1}^s \frac{|P_{i,k} - P_{j,k}|}{P_{i,k} + P_{j,k}}$$

$P_{i,k}$ = abondance relative de la bande k dans le profil i

$P_{j,k}$ = abondance relative de la bande k dans le profil j

De très nombreux indices de similarité peuvent être proposés, influençant fortement les résultats d'ordination et de groupements (Legendre et al., 1998 ; Gentile et al., 2007 ; Cabrol, 2010). Lorsque les données à comparer contiennent de multiples zéros, plusieurs auteurs considèrent l'indice de Bray-Curtis comme le mieux adapté (Rees et al., 2004 ; Cabrol, 2010).

2.3. Résultats et discussion

2.3.1. Stabilisation du pH

Au début de l'expérience, comme indiqué dans le matériel et méthodes, le pH de la phase aqueuse de chaque microcosme est neutre, puis maintenue à une valeur qui lui a été attribué (pH7, 5, 3 et 1).

La concentration de chaque composé est de $100 \text{ mg.m}^{-3} \pm 3 \text{ mg.m}^{-3}$.

La **figure 16** représente le nombre de jours nécessaire avant d'atteindre la valeur de pH allouée à chaque microcosme :

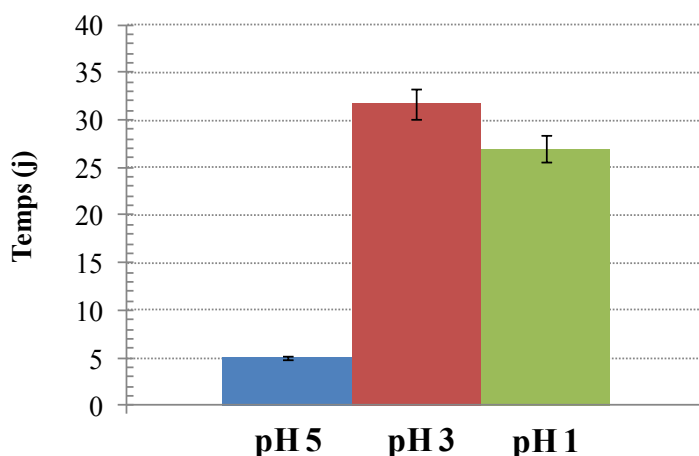
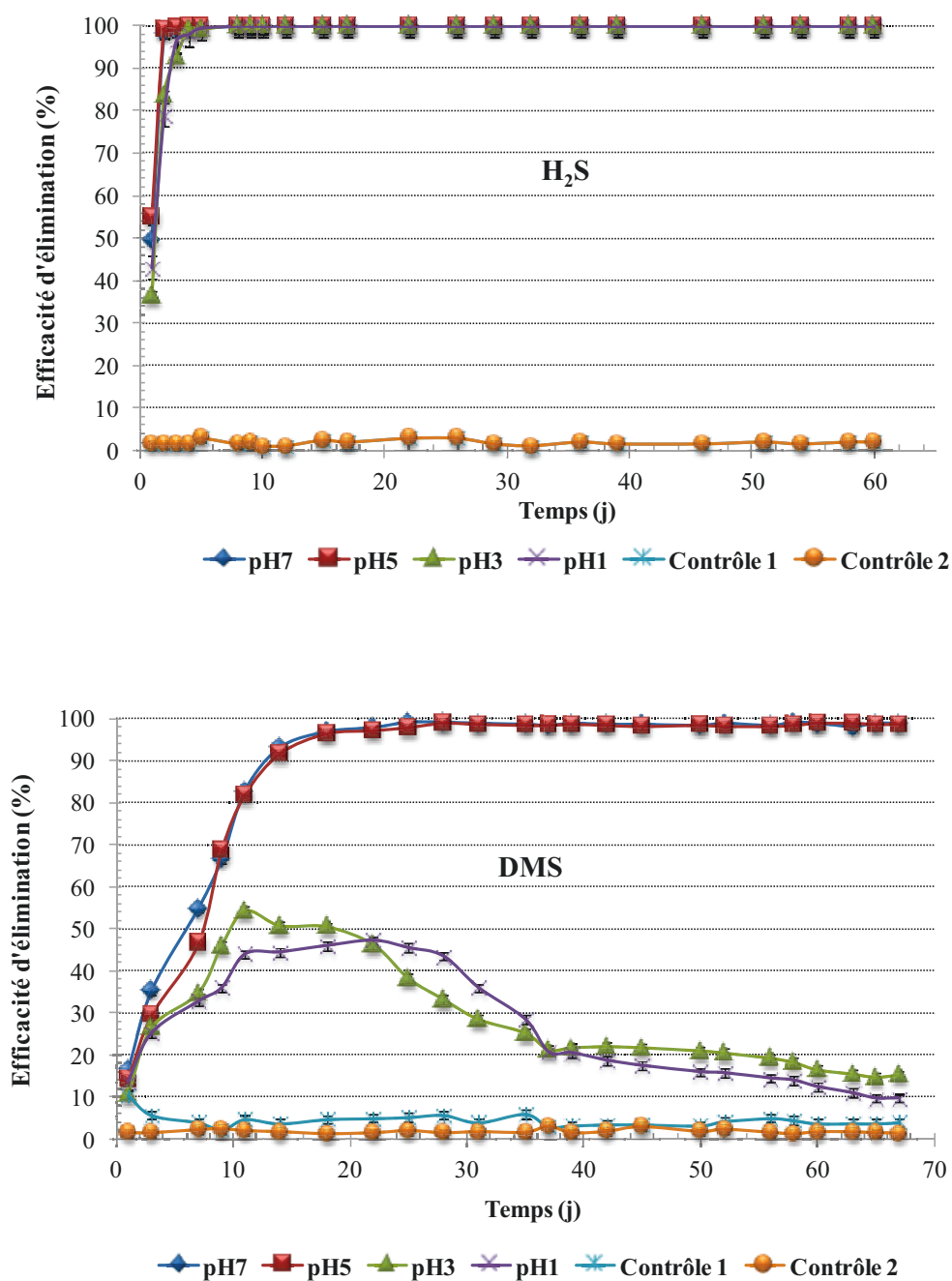


Figure 16 : Nombre de jours nécessaire pour atteindre la valeur de pH alloué à chaque microcosme (Moyenne des expériences E1 et E2).

La valeur de pH 5 est atteinte après 7 jours de fonctionnement du microcosme alors que les valeurs de 1 et 3 sont atteintes après 25 à 30 jours de fonctionnement des microcosmes. Cette observation peut s'expliquer par l'action du tampon phosphate (**annexe 6**) présent dans la solution nutritive.

2.3.2. Abattement des composés soufrés réduits

La **figure 17** présente l'évolution du niveau d'abattement moyen des composés soufrés réduits (H_2S , DMS et DMDS) pendant la durée des deux essais E1 et E2 (67 jours). Les écart-types sont mentionnés sur les graphes (écart type min : 1% ; écart type max : 6%).



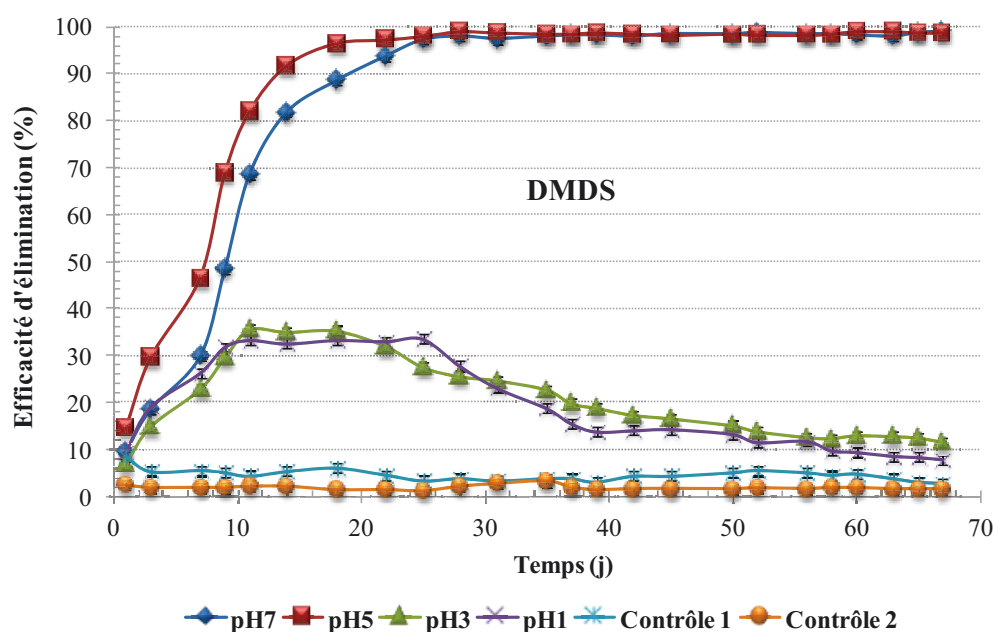


Figure 17 : Evolution du taux d'abattement de l'H₂S, du DMS et du DMDS respectivement, pendant la durée des essais E1 et E2 (moyenne des deux essais).

Le taux d'abattement de l'H₂S est très élevé (environ 90-95%) dès le 4^{ème} jour de fonctionnement. Après une dizaine de jours de fonctionnement, l'H₂S est complètement éliminé, quel que soit le pH de la phase liquide.

L'analyse de ces résultats met en évidence que le taux d'abattement du DMS et du DMDS diffère suivant les microcosmes. Deux groupes peuvent être distingués : les microcosmes dont le pH de la phase liquide sont maintenus à 7 et 5 d'une part et les microcosmes dont le pH de la phase liquide sont maintenus à 3 et 1 d'autre part. Concernant les microcosmes maintenus à pH7 et 5 et après 10 jours de fonctionnement, le taux d'abattement des DMS et DMDS augmente, pour atteindre des valeurs proches de 70% pour le DMS et de 70-80% pour le DMDS. Une élimination complète de ces deux composés est atteinte après une vingtaine de jours de fonctionnement.

En revanche, pour les microcosmes maintenus à pH3 et 1, le taux d'abattement de ces composés est d'environ 45-50% et 35% pour le DMS et le DMDS respectivement après 10 jours de fonctionnement.

Après une stabilisation des niveaux d'efficacité entre le 10^{ème} et le 20^{ème} jour, une diminution de l'efficacité d'élimination de ces composés est observée à partir du 20^{ème} jour de

fonctionnement, les valeurs d'abattement se maintenant à des valeurs de 15-20% pour le DMS et 10-15% pour le DMDS en fin d'expérience.

Ces résultats semblent ainsi révéler que les conditions environnementales ont un impact sur la dégradation des composés organiques soufrés (DMS et DMDS). Il est fort probable que l'oxydation biologique de l' H_2S est à l'origine d'une accumulation d'acide sulfurique (Sercu et al., 2005) dans la phase aqueuse, induisant une diminution du pH et une inhibition progressive de l'activité des communautés bactériennes dégradant le DMS et le DMDS (Shinabe et al., 1995 ; Adib et al., 1999 ; Lee et al., 2005). Des études (Smith et al., 1998 ; Ito et al., 2007) ont également montré que les communautés bactériennes intervenant dans la dégradation du DMDS en tant que mono-polluant, avaient une croissance optimum pour des pH compris entre 6 et 8. Il a été observé que les voies métaboliques de dégradation des différents composés d'un mélange sont plus ou moins complexes (Cai et al., 2007). En effet pour les microcosmes évoluant à pH acide (pH3 et 1), et en présence de plusieurs substrats, il est probable qu'une ou plusieurs population(s) potentiellement capable(s) de dégrader chaque substrat individuellement, puisse(nt) opérer un shift métabolique vers la consommation de l'hydrogène sulfuré (substrat préférentiel) au détriment des composés organiques soufrés (substrats plus récalcitrants) (Cabrol, 2010). De même, en cas de stress, la cellule déclenche un mécanisme de réponse qui demande plus d'énergie, énergie préférentiellement fournie par la consommation des sources les plus facilement métabolisables. Une autre hypothèse permettant d'expliquer la forte diminution du taux d'abattement du DMS et du DMDS après 20 jours de fonctionnement au sein des microcosmes maintenus à pH1 et 3 est la compétition entre les espèces. Une population possédant un taux de croissance supérieur colonise l'espace et consomme l' H_2S , empêchant ainsi la seconde population d'atteindre une densité suffisante pour l'élimination des DMS et DMDS (Mohseni et al., 2000).

Pour résumer, l' H_2S est éliminé quel que soit le pH observé alors que les DMS et DMDS sont complètement dégradés par la microflore uniquement lorsque le pH de la phase liquide est supérieur ou égal à 5. Le taux d'abattement des CSR semble donc directement lié au pH. Les acteurs de cette dégradation étant les micro-organismes, la structure de la communauté bactérienne totale a été évaluée afin d'expliquer plus finement les résultats obtenus.

2.3.3. Analyse de la communauté bactérienne totale

Après 67 jours de fonctionnement, des échantillons ont été prélevés en duplicat dans les différents microcosmes pour les deux expériences. L'ADN génomique a été extrait puis amplifié par PCR, les amplicons ayant été ensuite séparés par DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis). La séquence d'ADN cible est celle de la région variable V3 de l'ADN ribosomal 16S chez les bactéries. Le choix de cette séquence se justifie notamment par sa présence ubiquitaire dans le monde du vivant et l'alternance de zones hautement conservées et de zones variables (Olsen et al., 1993).

La reproductibilité de la méthodologie mise en œuvre (de l'extraction des échantillons à la migration des amplicons sur gel DGGE) a été réalisée à partir d'un échantillon de la phase liquide du microcosme pH1 de l'expérience 1 (E1). Cet échantillon a été divisé en 8 sous-échantillons, chacun étant traité indépendamment des autres sous-échantillons. Les résultats sont présentés sur la **figure 18**.

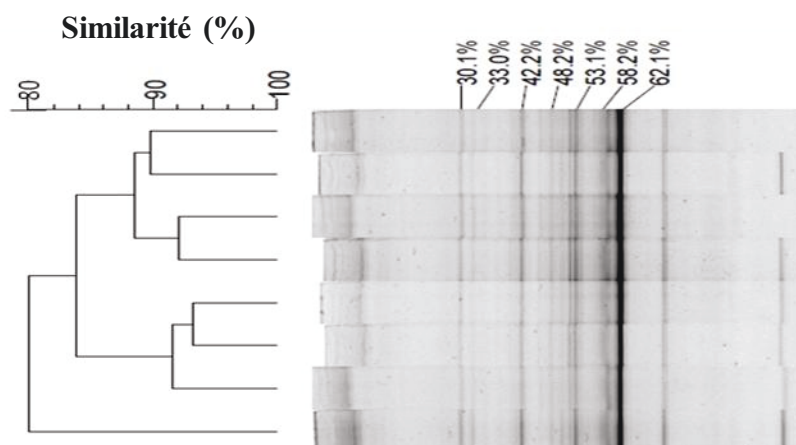


Figure 18 : Représentation de la structure de la communauté d'un échantillon de la phase liquide du microcosme pH1 (échantillon subdivisé en huit sous-échantillons traités de manière indépendante). La clustérisation est basée sur l'analyse des positions et des intensités relatives des bandes détectées sur les profils DGGE. Le dendrogramme est construit selon la méthode UPGMA à partir de la matrice des similarités calculées par l'indice de Bray-Curtis.

La structure de la communauté des répliquats est similaire (88% de similarité selon l'indice de Bray-Curtis). Ce résultat est du même ordre de grandeur que celui observé dans le cadre d'autres études (Kozdroj et al., 2000 ; Carrig et al., 2007 ; Cabrol et al., 2012).

2.3.3.1. Influence du pH sur la structure et la diversité de la communauté bactérienne totale

- **Diversité globale**

La diversité globale de la communauté bactérienne totale au sein de chaque microcosme est évaluée (**figure 19**) en calculant l'indice de Shannon. Le calcul de cet indice se base sur le nombre de bandes d'un profil DGGE et leur intensité relative.

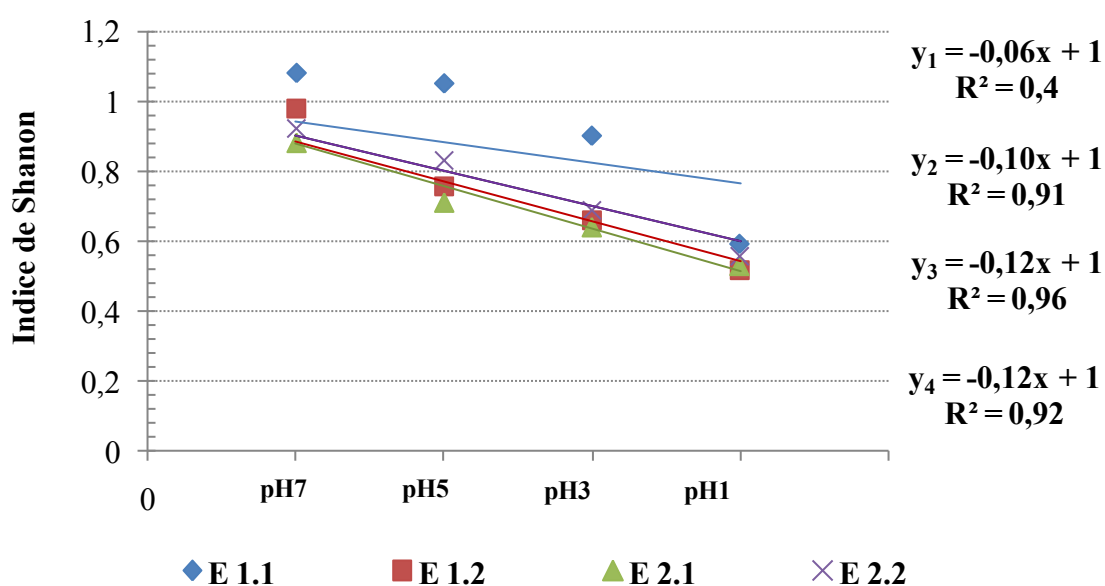


Figure 19 : Evolution de la valeur de l'indice de Shannon en fonction du pH des microcosmes. Les droites de régression linéaire correspondent respectivement à $y_1 = E\ 1.1$; $y_2 = E\ 2.2$; $y_3 = E\ 2.1$; $y_4 = E\ 2.2$.

La comparaison de la valeur de l'indice de Shannon avec celle obtenue pour d'autres écosystèmes similaires (biomasse planctonique, systèmes anthropisés) met en relief que la diversité de la communauté bactérienne totale au sein de ces microcosmes est relativement faible (0,6 à 1,1). En effet la valeur de l'indice de Shannon pour un écosystème contenant des bactéries sulfo-oxydantes est généralement de l'ordre de 2,5 (Li et al., 2011 ; Legrand, 2011). Il convient de rappeler que l'indice de Shannon pour l'inoculum est de 1,3 et 1,1 pour les expériences E1 et E2 respectivement. Ces inocula, issus d'un effluent liquide en contact avec notamment des composés soufrés (hydrogène sulfuré et mercaptans) sont fort probablement composés d'une communauté microbienne spécifique.

Comme indiqué sur la **figure 19** une diminution linéaire de la diversité de la communauté bactérienne totale est observé quand le pH de la solution aqueuse devient acide ($1,00 \pm 0,09$ à $0,60 \pm 0,02$). Cette diminution de la diversité peut être liée au taux d'abattement des composés soufrés réduits : pour les microcosmes maintenus à pH3 et 1, le taux d'abattement du DMS et du DMDS est faible (autour de 20%). Ce résultat peut s'expliquer par une inhibition de la croissance de populations bactériennes spécifiques intervenant dans la dégradation de ces deux composés lors de l'acidification de la phase aqueuse du bioréacteur, ces populations dominantes en début d'expérience deviennent minoritaires et ne sont plus détectées par la technique analytique utilisée.

En revanche, pour les microcosmes dont le pH de la phase aqueuse se situe autour de la neutralité (pH7 et 5), la diversité des communautés bactériennes évolue peu par rapport à celle de l'inoculum. La stabilisation du pH à des valeurs proches de la neutralité semble favoriser le maintien du niveau de diversité de la communauté d'origine.

Ces premiers résultats mettent en évidence que les communautés bactériennes impliquées dans la biodégradation de ces composés soufrés semblent être sensibles aux conditions environnementales.

Néanmoins, la capacité des indices de diversité à refléter la diversité réelle d'un écosystème étant sujette à la controverse, l'analyse des structures de communautés a été réalisée dans le cadre de cette étude, offrant un meilleur potentiel de discrimination que les indices globaux de diversité.

- **Structure**

La **figure 20** représente les profils DGGE de la communauté bactérienne totale d'un duplicat de l'expérience 2 (E2.2) pour les différents pH testés :

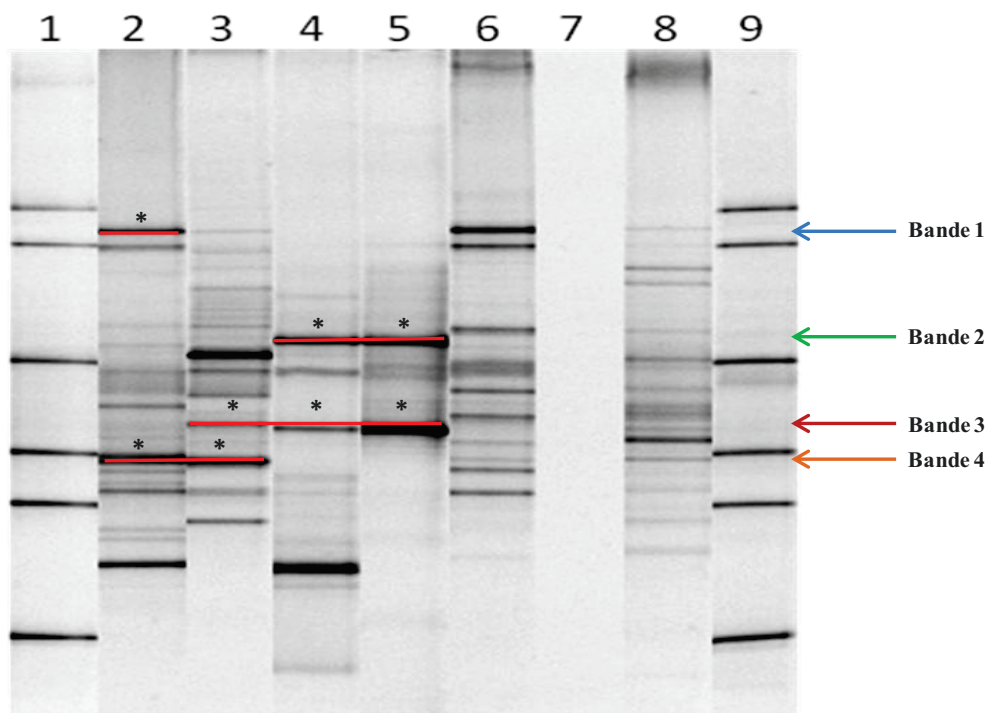


Figure 20 : Structure de la communauté bactérienne totale des différents microcosmes : (1, 9) Standard ; (2) pH 7 ; (3) pH 5 ; (4) pH 3 ; (5) pH 1 ; (6) contrôle 1 ; (7) contrôle 2 ; (8) Inoculum ; (*) ADN excisé et séquencé.

Une évolution similaire est observée pour les échantillons issus des essais E1.1, E1.2 et E2.1 (**annexe 3**). L'analyse visuelle de ces profils montre clairement l'importance du pH sur la structure de la communauté bactérienne totale. Une analyse plus détaillée des données obtenues révèle qu'après 67 jours de fonctionnement et quel que soit le pH considéré, la structure de la communauté bactérienne totale diffère par rapport à celle de l'inoculum. La communauté la plus éloignée de l'inoculum, en termes de richesse et d'abondances relatives, est celle se développant dans les microcosmes dont le pH est acide (pH1). Ainsi, la pression de sélection imposée sur les communautés microbiennes (concentration des polluants et le pH) est suffisante pour influencer fortement la structure de la communauté bactérienne totale. D'autres auteurs ont également mis en évidence l'importance du paramètre pH, notamment dans des conditions similaires de paramètres opératoires (pH, température), de profondes modifications structurelles au sein de la communauté bactérienne totale peuvent être observées (Egli et al., 2003). Comme indiqué sur la figure, dans un environnement acide, le faible taux de dégradation du DMS et DMDS peut être expliqué par la disparition de populations susceptibles d'intervenir dans la dégradation de ces deux composés.

L'analyse des profils DGGE des communautés microbiennes se développant au sein des microcosmes maintenus à pH7 et 5 révèle une structure différente alors que la composante fonctionnelle est similaire (abattement total des composés soufrés). Ce phénomène peut s'expliquer par la présence, au sein de l'inoculum, d'un réservoir de différentes espèces capables d'utiliser les mêmes composés (composés soufrés en l'occurrence) comme source de carbone et d'énergie. Il semblerait que les conditions environnementales propres à chaque microcosme favorisent le développement de certaines populations par rapport à d'autres.

L'analyse de ces résultats a été approfondie par l'identification d'espèces émergentes dans chaque microcosme. L'ADN de 4 bandes dominantes a été excisé, purifié, cloné puis séquencé.

Le **tableau 7** présente l'affiliation des séquences de la région variable V3 de l'ADNr 16S.

Tableau 7 : Pourcentage de similarité des séquences V3 de l'ADNr 16S des bandes DGGE de l'expérience E.2.2, déterminé par alignement des séquences selon Ribosomal Database Project (RDP) (15 clones analysés au total).

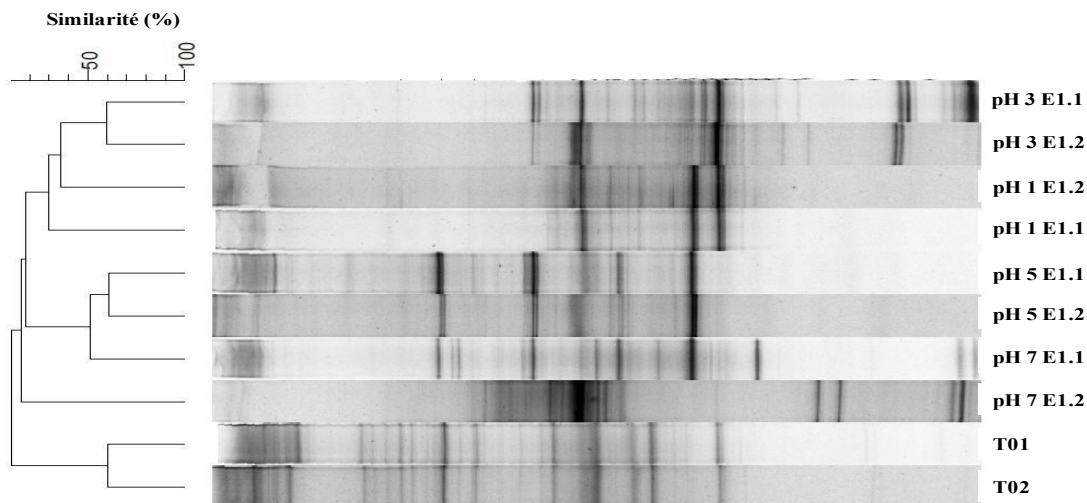
Microcosmes	Classe	Genres	Similarité
pH 7	Gammaproteobacteria	<i>Thioalkalibacter</i>	46 % ± 8 %
pH 5	Gammaproteobacteria	<i>Dyella</i>	73 % ± 6 %
pH 3	Gammaproteobacteria	<i>Acidithiobacillus</i>	99 % ± 1 %
pH 1	Gammaproteobacteria	<i>Acidithiobacillus</i>	98 % ± 1 %

La classe des Gammaproteobacteria semble être représentée dans l'ensemble des microcosmes mis en œuvre. Pour les microcosmes à pH acide, le genre *Acidithiobacillus* a été identifié avec une similarité proche de 100% d'après la base de données (RDP). Dans les milieux acides contenant du soufre, la bio-oxydation des sulfures (H₂S) a été largement étudiée, les genres *Thiobacillus* et *Acidithiobacillus* (Sercu et al., 2005 ; Rappert et al., 2005) sont dominants. Concernant les microcosmes maintenus à pH7 et 5, l'alignement des séquences d'ADN excisé avec celles de la base de données RDP révèle la présence de genres (*Thioalkalibacter* et *Dyella*) identifiés dans le cadre d'autres travaux portant sur la dégradation biologique de composés soufrés (Sercu et al., 2005 ; Rappert et al., 2005 ; Olguin-Lora et al., 2010 ; Legrand, 2011) et dans des environnements dont le pH est proche de la neutralité et/ou dont la concentration en sels est élevée (Caceres et al., 2012 ; Lafita et al., 2012 ; Jones et al., 2012). Néanmoins, ces résultats sont à manipuler avec prudence car les résultats de l'alignement des séquences d'ADN excisé sont de l'ordre de 50 à 70%.

La principale raison est la taille de la séquence d'ADN excisé (environ 200 paires de bases) qui peut induire des biais lors de son utilisation pour identifier les espèces présentes dans l'échantillon. Une autre explication est liée à la co-migration, dans le gel de polyacrylamide, de différentes séquences d'ADN issues de différentes espèces.

2.3.3.2. Influence de l'inoculum sur la structure et la diversité de la communauté bactérienne totale

La **figure 21**, représente la structure des communautés dans les microcosmes pour les expériences 1 et 2, obtenue par clustérisation basée sur l'analyse des positions et des intensités relatives des bandes détectées sur gel DGGE.



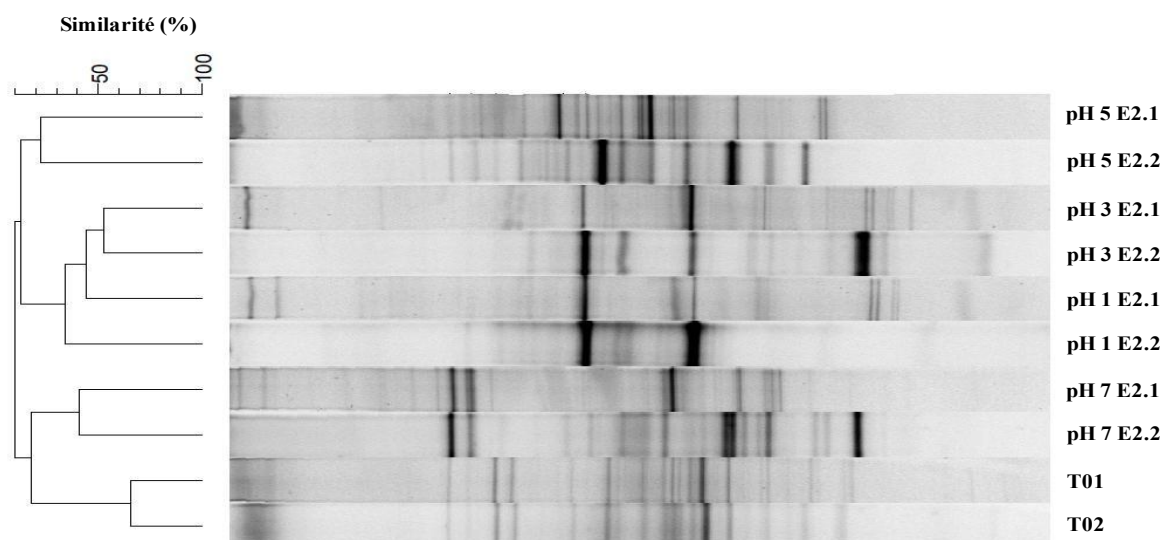


Figure 21 : Représentation de la structure des communautés dans les microcosmes des expériences E1 et E2 respectivement. Clustérisation basée sur l'analyse des positions et des intensités relatives des bandes détectées sur profil DGGE. Le dendrogramme est construit selon la méthode UPGMA à partir de la matrice des similarités calculées par l'indice de Bray-Curtis.

Comme le montre la **figure 21**, sont distingués les inocula de départ (65%) et les microcosmes pour lesquels le pH de la phase aqueuse est acide (45-60%). La structure de la communauté bactérienne totale au sein des microcosmes pour lesquels le pH de la phase aqueuse est maintenu à 5, ou à la neutralité, tend à diverger (14% pour l'expérience E1). De plus, la structure de la communauté au sein de deux microcosmes dupliqués (issue d'un même inoculum) peut différer (expérience E1).

Néanmoins, il convient de rappeler que, pour une gamme de pH considérée (5-7 ou 1-3), le taux de biodégradation des composés soufrés est équivalent quel que soit l'inoculum.

Ces résultats semblent montrer d'une part que des communautés distinctes provenant d'un inoculum différent peuvent atteindre des niveaux de performance similaires. Ce résultat a été mis en évidence par d'autres auteurs (Mannucci et al., 2012). L'émergence d'espèces spécifiques à chaque inoculum et assurant la même fonction (dégradation des composés soufrés) semble expliquer les différences de structure observées.

D'autre part, cette analyse semble révéler que, pour des conditions opératoires équivalentes, deux communautés différentes issues d'un même inoculum peuvent atteindre les mêmes performances épuratoires.

Il a été reporté dans la littérature qu'une communauté initiale peut s'adapter différemment (phénomènes d'exclusion compétitive, redondances fonctionnelles) (Cabrol et al., 2012).

Pour compléter les données obtenues, l'examen de la dynamique temporelle de la structure de la communauté bactérienne totale pourrait être envisagé car susceptible d'apporter des informations pertinentes concernant d'une part l'établissement de la communauté en lien avec l'évolution de la résultante fonctionnelle de dégradation (notamment pour les microcosmes pH 1-3) et d'autre part concernant le niveau de stabilité/instabilité de la structure de la communauté pour des niveaux d'efficacité d'élimination constants (microcosmes pH 5-7 à l'état stationnaire).

2.4. Conclusion

L'objectif de ce chapitre est d'évaluer l'influence des conditions opératoires (pH, inoculum) sur la dégradation de composés soufrés H_2S , DMS et DMDS ainsi que la structuration de la communauté bactérienne totale dans des microcosmes dans lesquels la biomasse est libre.

Les résultats obtenus montrent que la valeur du pH de la phase aqueuse a une influence sur la biodégradation des composés soufrés organique. Une élimination complète de ces composés est observée pour une gamme de pH comprise entre 7 et 5. En revanche, pour un pH acide (pH 3 et 1), les taux d'abattement du DMS et du DMDS sont faibles (10 et 20% respectivement). Néanmoins, le taux d'abattement de l' H_2S est de 100%, quel que soit le pH testé.

La pression de sélection imposée aux microcosmes au départ de l'expérience (nature et concentration des composés, pH) influence fortement la structure des communautés bactériennes dans ces microcosmes. D'après la littérature, il a été révélé que le pH a un effet important sur les performances de biodégradation des composés soufrés (Prado et al., 2006) car il conditionne l'état d'ionisation des solutés et leur taux de transfert, ainsi que le développement des communautés microbiennes. De plus, les communautés microbiennes présentes dans les biofiltres sont généralement adaptées à une gamme de pH de 6 à 8 (Delhoménie et al., 2005 ; Malhautier et al., 2005), même si certaines populations tolèrent un pH beaucoup plus acide (Easter et al., 2005). Ces résultats semblent révéler que des communautés distinctes provenant d'un inoculum différent (les autres conditions opératoires étant identiques) peuvent atteindre des performances de dégradation similaires et stables.

Ce résultat peut s'expliquer par la diversité des genres bactériens oxydant le soufre (SOB) : *Thiobacillus* (Malhautier et al., 2003), *Hyphomicrobium* (Sercu et al., 2005), *Pseudomonas* (Chung et al., 2001) et *Arthrobacter* (Lee et al., 2005) et par les phénomènes d'exclusion compétitive à l'origine de l'émergence de populations fonctionnelles au détriment d'autres présentes dans l'inoculum.

Ces premiers travaux apportent des données intéressantes sur la dégradation biologique d'un mélange de composés soufrés et permettent d'établir des recommandations concernant le traitement de ces composés. Elles seront prises en compte dans le chapitre suivant dont l'objectif est d'approcher les potentialités d'un couplage de deux procédés biologiques : lit percolateur/biofiltre. La régulation du pH de la phase liquide étant plus aisément contrôlée au sein du filtre percolateur que celle du biofiltre (Iranpour et al., 2005), il est envisagé

d'augmenter la biodégradabilité des composés soufrés au sein du lit percolateur, et d'affiner l'élimination des composés récalcitrants par post-traitement (biofiltre).

Chapitre 3 :

Traitement de composés soufrés en mélange : Evaluation des performances d'un couplage lit percolateur/biofiltre.

3.1. Introduction

Le chapitre précédent a permis d'établir des recommandations dans l'objectif d'améliorer le traitement par voie biologique de composés soufrés en mélange (H_2S , DMS et DMDS). Les résultats obtenus par des microcosmes inoculés par une biomasse libre mettent en évidence une biodégradation totale des composés soufrés pour une gamme de pH comprise entre 5 et 7, quel que soit l'inoculum. Ainsi, ces travaux ont mis en évidence qu'un contrôle du pH de la phase aqueuse est nécessaire pour traiter un mélange complexe de composés soufrés.

Ce chapitre s'articule plus précisément autour du questionnement relatif à l'augmentation des niveaux d'abattement de composés soufrés réduits (DMS et DMDS) en mélange avec de l' H_2S par des procédés biologiques de traitement des effluents gazeux. L'objectif du travail consiste plus particulièrement à évaluer les potentialités du couplage de deux procédés biologiques (filtre percolateur/biofiltre) utilisé pour traiter un mélange de composés soufrés et à comparer les niveaux d'abattement atteints par le couplage avec ceux mesurés pour un biofiltre seul, utilisé en tant que référence. La régulation du pH de la phase liquide étant plus aisée pour le filtre percolateur que pour le biofiltre, il apparaît judicieux de privilégier une configuration filtre percolateur/biofiltre, le biofiltre affinant l'élimination des composés plus récalcitrants par post-traitement.

Ce chapitre est ainsi structuré de la façon suivante.

Dans le cadre de cette étude, les biofiltres mis en œuvre sont garnis par trois matériaux (plaquettes papetières, fibre de coco et écorces de pin) disposés en strates de 20 cm de la façon suivante : plaquettes papetières, fibre de coco, plaquettes papetières, fibre de coco, écorces de pin (**cf § 3.2.4.**). L'utilisation de différents matériaux disposés en strates n'ayant pas fait l'objet de travaux disponibles à notre connaissance, il est donc nécessaire, dans un premier temps, d'évaluer les performances d'une unité pilote garnie selon la procédure mentionnée ci-dessus dans le cadre du traitement d'un effluent gazeux contenant des composés soufrés et de comparer les résultats obtenus avec ceux de la littérature. Pour faciliter cette analyse comparative, il nous a donc semblé pertinent de générer un effluent gazeux dont le traitement a fait l'objet de nombreux travaux. En adéquation avec les objectifs de notre étude, le traitement d'un effluent gazeux mono-polluant avec l' H_2S comme molécule modèle a été envisagé. Si d'après la littérature, le traitement par biofiltration d'effluents gazeux mono-polluant avec l'hydrogène sulfuré comme molécule modèle a fait l'objet de

nombreux travaux en laboratoire, en revanche, les études portant sur l'élimination de composés soufrés en mélange sont rares (**cf § 1.6.**).

Le traitement par biofiltration d'un mélange de composés soufrés (H_2S , DMS et DMDS) a donc fait l'objet d'une attention particulière en incluant des biofiltres dupliquats.

Dans un second temps, les potentialités du couplage filtre percolateur/biofiltre d'un mélange de soufrés (DMS, DMDS et H_2S) seront évaluées et comparées à celles atteintes par les biofiltres dupliqués et alimentés par un effluent gazeux de composition identique. Les conditions opératoires des bioréacteurs en termes de concentration de l'effluent gazeux synthétique en entrée de colonne, de vitesse de passage du gaz, du taux d'humidité du garnissage et de l'inoculation du matériau support sont contrôlées pendant toute la durée de l'expérience.

Enfin, nous chercherons à déterminer quelles relations, s'il y en a, s'établissent entre la densité et la structure de la communauté bactérienne d'une part et la résultante fonctionnelle de dégradation d'autre part, sous l'influence de conditions opératoires stables. De plus, afin d'approcher la communauté fonctionnelle, nous estimerons les densités de peuplement de deux populations reconnues pour consommer les composés soufrés dans des conditions de fonctionnement stables. La mise en relation de la distribution des densités de ces populations avec celle de la résultante fonctionnelle de dégradation sera également étudiée.

3.2. Matériel et méthodes

3.2.2. Génération de l'effluent gazeux synthétique

3.2.2.1. Effluent gazeux mono-polluant

L'effluent mono-polluant considéré est l'hydrogène sulfuré (H_2S). Celui-ci est généré en mixant de l' H_2S (99,7% de pureté) dans un flux d'air comprimé, et régulé via un débitmètre massique (Mass Flow Controller Model 5850S, Brooks Instrument, Hatfield, USA) calibré à $20 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$.

3.2.2.2. Effluent gazeux complexe

Les molécules modèles retenues pour cette étude sont :

- L'hydrogène sulfuré (H_2S).
- Le diméthylsulfure (DMS).
- Le diméthyldisulfure (DMDS).

La génération de l'effluent gazeux est effectué par volatilisation du DMS et DMDS à l'état liquide (pureté > à 99%, VWR, West Chester, PA) au moyen d'une pompe doseuse (Mikro g/5, Prominent, Heidelberg, Allemagne) dans un flux d'air comprimé ($30 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$). L' H_2S est directement injecté dans le flux d'air comprimé (contenant le DMS et le DMDS) à l'aide d'un débitmètre massique (Mass Flow Controller Model 5850TR, Brooks Instrument, Hatfield, USA) calibré à $15 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. Cet effluent gazeux concentré est homogénéisé, puis dilué dans de l'air atmosphérique préalablement humidifié.

3.2.3. Les unités pilotes

Deux dispositifs expérimentaux ont été mis en œuvre au sein des locaux de l'Ecole des Mines de Nantes et de l'Ecole des Mines d'Alès.

Dans les deux cas, ils sont constitués d'une turbine reliée à une colonne d'humidification en PEHD (Polyéthylène Haute Densité) de 20 cm de diamètre interne, elle-même reliée à une unité pilote de biofiltration BFH₂S (Ecole des Mines de Nantes) ou à deux unités pilotes de biofiltration (BFA et BFB) et à un lit percolateur couplé à un biofiltre (FP/BFC) (Ecole des Mines d'Alès). Dans les deux cas, il s'agit de colonne(s) en PVC transparent de 30 cm de diamètre interne. Les plans d'implantation sont donnés en **annexe 4**. L'air atmosphérique aspiré par la turbine, dont le flux est généré au moyen d'un ventilateur régulé (régulateur de fréquence FMV 2107, Leroy SomerR, Angoulême, France), traverse la colonne d'humidification (taux d'humidité supérieur à 97%) garnie d'anneaux Hiflow sur une hauteur de 1,50 m et dont la phase aqueuse (eau du réseau) est recirculante, puis alimente les différentes unités pilotes. L'effluent gazeux concentré est dilué dans l'air atmosphérique en sortie de la colonne d'humidification.

Les unités pilotes de biofiltration (**figure 22**) sont des colonnes de 30 cm de diamètre interne et remplies de trois matériaux de nature organique (plaquettes papetières, fibre de coco, écorces de pin) superposés en strates sur une hauteur de 1 m (cf. § 3.2.4.).

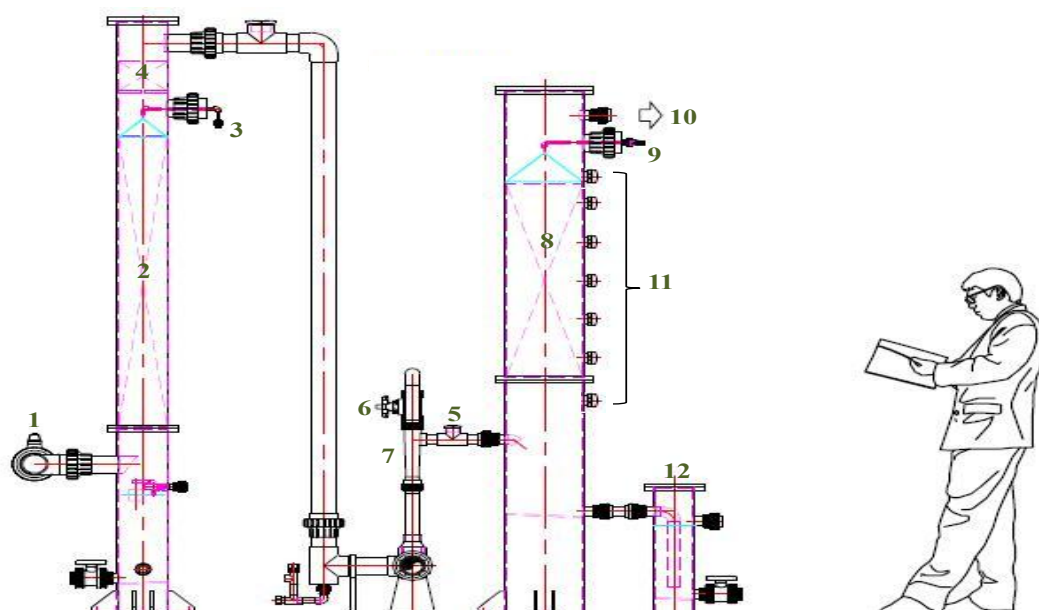


Figure 22 : Unité pilote de biofiltration.

1 : Ventilateur ; 2 : Colonne d'humidification ; 3 : Système d'humidification ; 4 : Dévésiculeur ; 5 : Point d'injection de l'effluent gazeux synthétique ; 6 : Vanne à membrane de réglage ; 7 : Rotamètre ; 8 : Colonne garnie d'une succession du tri-matériau (plaquette papetière ; fibre de coco, et écorce de pin) disposé en strate ; 9 : Système d'arrosage ; 10 : Sortie de l'effluent traité ; 11 : Points de prélèvement ; 12 : Récupérateur des eaux de percolation.

Chaque biofiltre est muni de sept points de prélèvement de gaz dont deux en entrée et en sortie de colonne et cinq disposés sur toute la hauteur de colonne garnie à 10, 30, 50, 70 et 90 cm.

Le couplage (**figure 23**) est constitué de deux procédés biologiques disposés en série : filtre percolateur/biofiltre. Le filtre percolateur est composé d'une colonne garnie par un matériau inerte (anneaux Hiflow) disposés en vrac sur une hauteur de 1 m et d'une cuve d'un volume de 300 L.

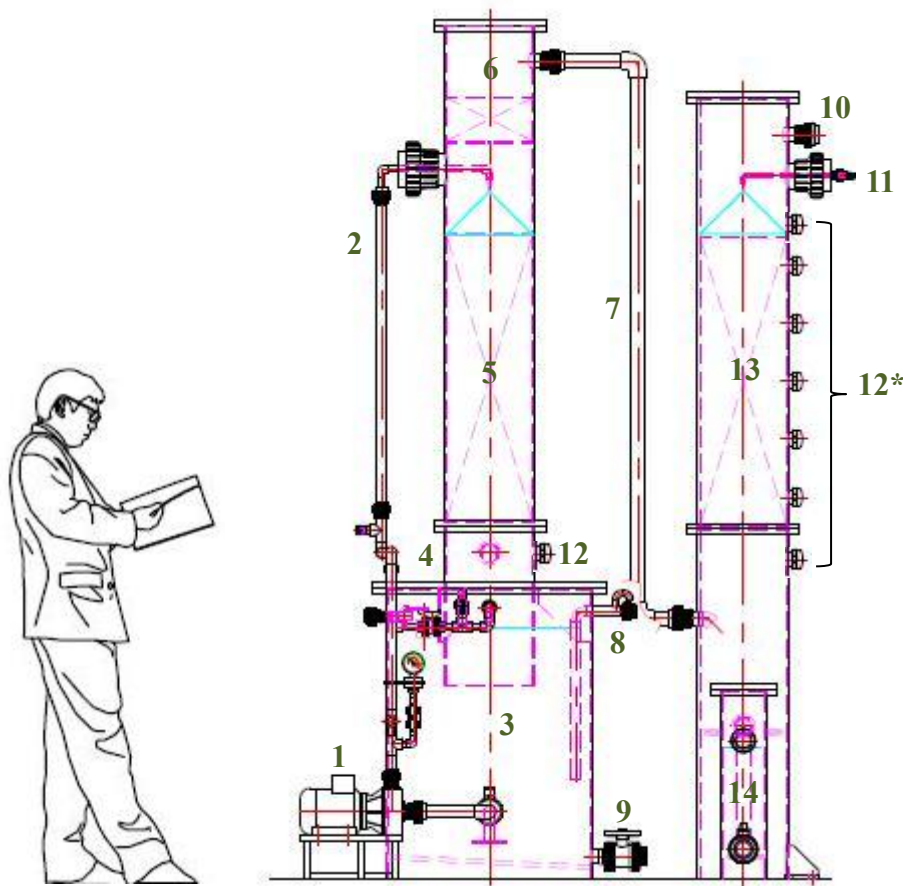


Figure 23 : Unité pilote couplage filtre percolateur/biofiltre.

1 : Pompe de recirculation de la phase aqueuse ; 2 : Système d'arrosage ; 3 : Cuve du filtre percolateur ; 4 : Point d'injection de l'effluent gazeux synthétique ; 5 : Colonne garnie sur 1 m en Anneaux hiflow ; 6 : Dévésiculeur ; 7 : Couplage du filtre percolateur et du biofiltre ; 8 : Trop plein ; 9 : Purge ; 10 : Sortie de l'effluent traité ; 11 : Système d'arrosage ; 12, 12* : Points de prélèvement ; 13 : Colonne garnie d'une succession du tri-matériau (plaquette papetière ; fibre de coco, et écorce de pin) disposé en strate ; 14 : Récupérateur des eaux de percolation.

Comme indiqué sur la **figure 23**, la sortie du filtre percolateur est reliée à une unité pilote de biofiltration (BFC) dont les caractéristiques ont été décrites ci-dessus. Le filtre percolateur possède deux points d'échantillonnage de gaz en entrée ($H = 0$ cm) et un en sortie ($H = 100$ cm). La concentration des contaminants au sein de l'effluent gazeux est identique en sortie du lit percolateur et en entrée du biofiltre BFC.

3.2.4. Le matériau support

Comme mentionné ci-dessus, les unités pilotes de biofiltration sont garnies par des matériaux supports de nature organique (**figure 24**) :

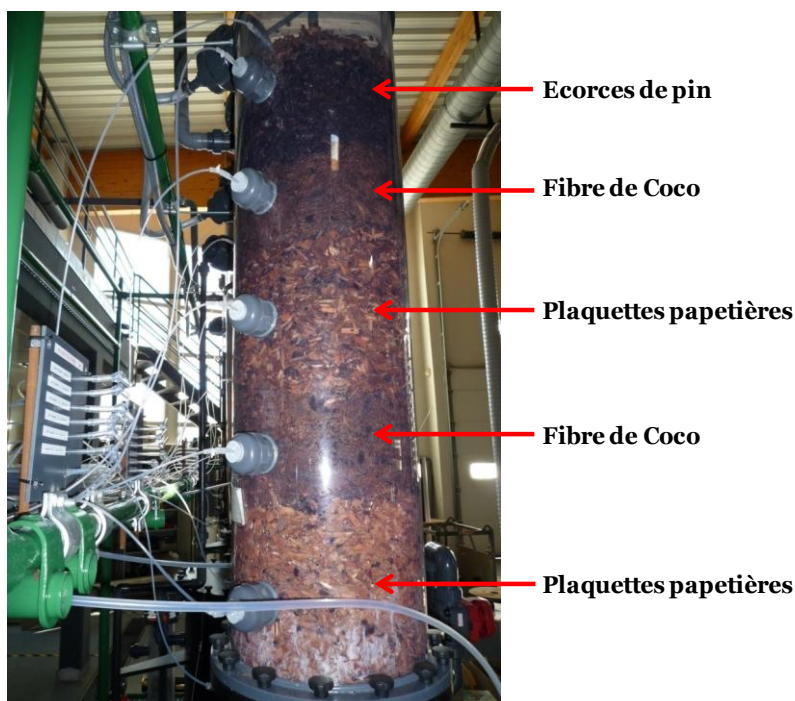


Figure 24 : Matériaux supports utilisés pour le biofiltre.

- Les Plaquettes Papetières (PP) (déchets de scierie, Cendras, France).
- Les Ecorces de Pin (EC) (Monsieur Bricolage, Alès, France).
- La fibre de coco (FC) (Bill biofiltre SA, VERI (Veolia Recherche & Innovation), Maisons-Laffitte, France).

Ces matériaux ont été sélectionnés car communément utilisés comme garnissage de biofiltres industriels.

Ceux-ci sont disposés en strates de 20 cm d'épaisseur avec une alternance PP/FC/PP/FC. Une strate de 20 cm d'écorces de pin permet d'atteindre une hauteur de garnissage de 1 m. Sur site industriel, le garnissage est composé soit d'un matériau unique (fibre de coco) soit d'un mélange de matériaux de nature organique (fibre de coco et écorces de pin par exemple). La disposition en strate de matériaux peut être intéressante sur site industriel car susceptible de réduire les coûts liés au remplissage du biofiltre et/ou au renouvellement du garnissage.

La colonne du filtre percolateur est garnie par des anneaux Hiflow dont les caractéristiques sont données dans le tableau suivant.

Les caractéristiques physico-chimiques des matériaux ont été déterminées selon le protocole mis en œuvre par Gadal-Mawart (2012) (**tableau 8**).

Tableau 8 : Propriétés physico-chimiques des matériaux supports utilisés (Gadal-Mawart, 2012). (*) : La surface spécifique statique de la fibre de coco est assimilée à la surface spécifique d'un cylindre équivalent.

Propriétés physiques		Plaquettes papetières	Fibre de coco	Ecorces de pin	Anneaux Hiflow
Surface spécifique ($\text{m}^2 \cdot \text{m}^{-3}$)		849	21253 (*)	954	275
Diamètre moyen de Sauter (mm)		11,4	ND	10,7	21,8
Masse volumique apparente ρ_a ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$)		175 ± 14	43 ± 7	217 ± 9	79 ± 2
Masse volumique réelle ρ_r ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$)		435 ± 32	219 ± 60	549 ± 41	676 ± 81
Degré de vide sec ε (%)		$0,60 \pm 0,02$	$0,80 \pm 0,03$	$0,60 \pm 0,02$	$0,88 \pm 0,01$
Capacité maximale de rétention d'eau (g d' $\text{H}_2\text{O} \cdot \text{g}^{-1}$ de mat)		$0,57 \pm 0,03$	$0,71 \pm 0,04$	$0,41 \pm 0,06$	$0,24 \pm 0,04$
Capacité maximale de rétention d'eau (m^{-3} d' $\text{H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-3}$ de mat)		$0,27 \pm 0,03$	$0,09 \pm 0,04$	$0,14 \pm 0,04$	$0,03 \pm 0,01$
Propriété chimique					
pH		$5,5 \pm 0,4$	$6,8 \pm 0,2$	$4,4 \pm 0,2$	7,5

Les plaquettes papetières et les écorces de pin sont tamisées entre 5 et 20 mm de diamètre. Le diamètre moyen d'une fibre de coco est d'environ 150 μm .

3.2.5. Inoculation

Les différents bioréacteurs BFA, BFB et FP/BFC (Ecole des Mines d'Alès) sont inoculés avec des eaux de lavage (10 L) des bacs de collecte de cadavres animaux et des ateliers d'un centre d'équarrissage (ATEMAX Sud-Est, Viriat, France) durant 24 heures par recirculation à un débit de 5 L.h^{-1} . Durant cette période, les biofiltres sont alimentés uniquement avec de l'air atmosphérique.

Le réacteur BFH₂S estensemencé de manière différente. Les différents matériaux supports sont mis en contact avec des boues d'épuration de la station d'eaux résiduaires urbaines (STEP) de la communauté de commune de Nantes.

3.2.6. Conditions opératoires

Les conditions opératoires des unités pilotes sont les suivantes.

3.2.6.1. Phase gazeuse

Le biofiltre BFH₂S est alimenté à courant ascendant par un effluent gazeux synthétique mono-polluant et humidifié ($97 \pm 3\%$), dont la concentration est de $27,0 \pm 1,4 \text{ mg.m}^{-3}$.

Les biofiltres BFA, BFB ainsi que le couplage FP/BFC sont alimentés à courant ascendant avec un effluent gazeux synthétique et humidifié ($97 \pm 3\%$), dont la composition et la concentration en polluants demeurent constantes pendant trois mois. L'expérimentation est réalisée à température ambiante. Un débit d'air préalablement humidifié de $7 \text{ m}^3.\text{h}^{-1}$ est appliqué à chaque colonne, soit une vitesse de passage de 100 m.h^{-1} correspondant à un temps de séjour en fut vide (EBRT) de 36 s.

La concentration de chaque composé est de :

- H₂S : $30,4 \text{ mg.m}^{-3} \pm 1,3 \text{ mg.m}^{-3}$.
- DMS : $20,6 \text{ mg.m}^{-3} \pm 1,1 \text{ mg.m}^{-3}$.
- DMDS : $20,5 \text{ mg.m}^{-3} \pm 0,9 \text{ mg.m}^{-3}$.

Ces données sont issues de la moyenne de mesures réalisées toutes les 10 minutes sur une période de 48 h (**annexe 5**).

3.2.6.2. Phase aqueuse

Concernant le filtre percolateur, le débit de recirculation de la phase liquide est de 250 L.h^{-1} soit une vitesse de passage de $3,5 \text{ m.h}^{-1}$.

Le taux d'humidité des différents matériaux de garnissage des biofiltres BFA, BFB et BFC est maintenu par l'apport d'une solution nutritive à $\text{pH} = 7,5$ contenant 10 mg.L^{-1} d'azote (engrais Optiplan, C/P/K = 24/20/2, Duclos International Engrais, Lunel, France) à un débit de $20 \text{ L.h}^{-1} \cdot \text{m}^{-3}$ de matériau. Cette solution apporte les éléments nutritifs essentiels (azote, phosphore et oligo-éléments) au développement de la biomasse. Un rapport C/N/P de 100/10/1 est appliqué dans le cadre de cette étude (**annexe 6**) (Song et al., 2003).

Il convient toutefois de préciser que le biofiltre BFH₂S, ne subit pas d'arrosage, ni d'apport en solution nutritive.

3.2.7. Méthodes analytiques

3.2.7.1. Phase gazeuse

Le suivi de l'efficacité d'abattement de l'H₂S sur le BFH₂S est effectué via un analyseur COSMA ONYX 5000 connecté à un four (900°C) permettant la conversion de l'H₂S en SO₂. Le principe de fonctionnement de l'analyseur repose sur la mesure de la fluorescence de SO₂ provoquée par l'absorption de radiations ultraviolettes (gamme de longueurs d'onde : 2300 \AA - 1900 \AA). L'analyseur est étalonné quotidiennement au moyen d'un gaz étalon (400 ppm) et la précision des mesures est de $\pm 1\%$ de la pleine échelle utilisée (0 - 50 ppm).

Concernant les biofiltres BFA et BFB ainsi que le couplage FP/BFC, la concentration des polluants est mesurée par un chromatographe en phase gazeuse Varian CP-3800 équipé d'un détecteur à photométrie de flamme pulsée (GC-PFPD) et d'une colonne capillaire Varian CP Sil5 CB for sulfur, de 30 m de long, de 0,32 mm de diamètre interne et de $0,4 \mu\text{m}$ d'épaisseur de film pour l'analyse de composés soufrés. Le seuil de détection le plus bas obtenue pour l'H₂S, le DMS et DMDS est de l'ordre du mg.m^{-3} .

Les paramètres opératoires sont présentés dans le **tableau 9**.

Tableau 9 : Conditions analytiques du GC-PFPD.

Injecteur	Four et colonne chromatographique	Détecteur
Température : 150°C	Isotherme 110°C 6 min Débit He (gaz vecteur) : 1,2 mL.min ⁻¹	Température : 250°C Débit air-1 : 18 mL.min ⁻¹ Débit H ₂ : 14 mL.min ⁻¹ Débit air-2 : 11 mL.min ⁻¹

L'acquisition des données est réalisée à partir du logiciel de commande du GC-PFPD Varian Star 5.5. Des droites d'étalonnage de chaque composé ont été réalisées dans les conditions analytiques données par le **tableau 9** et sont présentées en **annexe 7**.

Les prélèvements gazeux sont effectués à l'aide d'une ligne de prélèvement en Teflon (diamètre externe 0,32 cm). La boucle d'échantillonnage du chromatographe (500 µL) est balayée par l'effluent gazeux à un débit de 50 mL.min⁻¹ via une pompe à air KNF PM 13533-36 (MIDISCIENCES, Rousset, France).

L'efficacité d'élimination des composés soufrés est déterminée selon l'équation 9 :

$$(9) \quad EE_h = \left(1 - \frac{C_h}{C_i}\right) \times 100$$

C_h : Concentration en polluant à la hauteur de colonne h (mg.m⁻³)

C_i : Concentration en polluant en entrée du bioréacteur (mg.m⁻³)

EE_h : Efficacité d'élimination (%) à la hauteur h

3.2.7.2. Phase aqueuse

Un échantillon de 10 mL des eaux de percolation des biofiltres et de la phase liquide du filtre percolateur est prélevé de manière hebdomadaire afin d'évaluer le pH. Celui-ci est maintenu à la neutralité à l'aide d'une solution de soude (5N), selon les recommandations préconisées à l'issue du chapitre précédent. Il convient de préciser que le pH de BFH₂S n'a pas été régulé.

La concentration en azote (Nitrogen total reagent set, HACH Lange, Duesseldorf, Allemagne) et la concentration en sulfates (Sulfate reagent SulfaVerR4, HACH Lange, Duesseldorf,

Allemagne) sont déterminés à l'aide de kits de mesure HACH selon les recommandations du fournisseur.

3.2.7.3. Pertes de charges

Les pertes de charges, qui correspondent à la différence entre la pression du gaz à l'entrée de la colonne et celle de la sortie (hauteur de garnissage soit 1 m) (Fanlo, 1994), sont mesurées à l'aide d'un manomètre différentiel à tube inclinable (AirFlow Development Ltd, Buckinghamshire, England) pour BFA, BFB et BFC, et par un capteur de pression différentiel Setra (0-700 Pa) pour BFH₂S.

3.2.7.4. Analyses microbiologiques

- **Extraction de l'ADN génomique**

Concernant les biofiltres BFA, BFB et BFC, à l'état stationnaire (au 100^{ème} jour), des échantillons de matériaux (≈ 5 g) sont effectués à chaque point de prélèvement. Concernant le FP, un prélèvement de la phase aqueuse (500 mL) est également réalisé.

Les bactéries sont désorbées du matériau dans 20 ml de solution saline de NaCl à 9 g.L⁻¹ par agitation du matériau à 10 Hz pendant 2 min (Vibro-shaker MM200, Retsch, Haan, Allemagne), et ensuite centrifugées à 10000 rpm pendant 15 min. La quantité de culot utilisée pour extraire l'ADN est identique pour tous les échantillons (400 à 500 mg).

Concernant les échantillons liquides, une fois centrifugés, la quantité de culot récupérée est de 250 à 300 mg.

L'ADN génomique est extrait au moyen d'un kit FastDNA SPIN for Soil (MP Biomedicals, Irvine, CA, USA) selon les recommandations du fournisseur. L'ADN extrait (5-7 μ L) est visualisé par électrophorèse sur gel d'agarose 1 %, puis quantifié par mesure de l'absorbance à 260 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Multiscan Spectrum Spectrophotomètre, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Le volume d'ADN élué est de 90 μ L.

3.2.7.5. Analyses par PCR-DGGE

- **Amplification de l'ADN extrait**

La région V3 de l'ADNr-16S des eubactéries (196 pb, correspondant à la position F337-R533 chez *Escherichia Coli*) est amplifiée à l'aide d'amorces spécifiques V3F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') et V3R (5'-ATTACCGCGGCTGCTGGCAC-3') (Muyzer et al., 1993). Pour réaliser la DGGE, une séquence GC (40 bases) est intégrée en 5' de l'amorce V3F. L'amplification est réalisée à partir d'environ 100 ng d'ADN (~ 1 à 2 µL) dans un volume final de 50 µL contenant 0,6 µM de chaque amorce (Sigma-Aldrich), 0,2 mM de dNTP mix (0,05 mM de chaque dNTP, Bioline, Londres, UK), 2,5 mM de MgCl₂, 5 µL d'un tampon 10X Thermo-Start™ PCR et 1,75 U de Thermo-Start™ Taq DNA polymérase (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). La PCR est réalisée dans un thermocycler Tpersonal (Biometra, Goettingen, Allemagne). Le programme de la PCR est rappelé dans le **tableau 10** ci-dessous :

Tableau 10 : Conditions opératoires de la PCR

Etape	Durée	Température
Dénaturation initiale	18 min	95°C
Nombres de cycles		30
Dénaturation	30 sec	94°C
Hybridation	30 sec	68°C
Elongation	45 sec	72°C
Elongation finale	7 min	72°C

Un fragment de 250 paires de bases correspondant à la région V3 de l'ADNr 16S est ainsi généré. Les produits de PCR sont visualisés par électrophorèse sur gel d'agarose à 2 % puis quantifiés par absorbance à 535 nm après une coloration au PicoGreen (Quant-IT ds DNA HS reagent, Invitrogen, OR, USA).

- **Gel d'électrophorèse en gradient dénaturant (DGGE)**

La DGGE est réalisée avec un système Ingeny phor U-2 (Ingeny, Goes, Pays-Bas) selon le protocole de Muyzer et al, (1993), en utilisant des gels de polyacrylamide 8 % préparés avec un gradient dénaturant de 42 % à 63 %. Ce gradient dénaturant est obtenu à partir d'une solution à 100 % d'agent dénaturant contenant une concentration de 7 M d'urée et de 40 % v/v de formamide.

La migration se fait dans un tampon 1X TAE durant 16 h à 60°C, la tension appliquée étant de 100 V. Les gels DGGE sont ensuite colorés au Sybr green I (Invitrogen, Carlsbad, NM, USA), rincés puis photographiés sur une table UV, à une longueur d'onde de 520 nm à l'aide du dispositif Quantum ST4-1100 (Vilber Lourmat, Marne la Vallée, France).

- **Analyse des profils DGGE**

Les profils sont analysés selon le protocole décrit dans le chapitre 2 (cf. § 2.2.3.4.).

3.2.7.6. Analyses par qPCR

Les densités de la communauté bactérienne totale et des populations de *Hyphomicrobium* et *Thiobacillus thioparus* ont été déterminées par qPCR en ciblant le gène de l'ADNr16S selon le protocole détaillé ci-dessous. Les amorces permettant de cibler les trois populations sont :

- Les amorces V3F sans clamps (5'-ACTCCTAGCGGGAGGCAGCAG-3') et V3R (5'-ATTACCGCGGCTGCTGGCAC-3') pour évaluer la communauté bactérienne totale.
- Les amorces *Hypho* F (5'-GGCTCAACCTCGGACT-3') et *Hypho* R (5'-CGAATTTACCTCTACACTAGGAT-3') pour quantifier la population *Hyphomicrobium*.
- Les amorces *Thio* F (5'-CCTCACGTTATTCGAGCGG-3') et *Thio* R (5'-ACGCACTCTAGACTGCCA-3') pour quantifier la population de *Thiobacillus thioparus*.

La qPCR est réalisée au moyen d'un kit Biorad SsoFast™ EvaGreen® Supermix (Biorad, Hercules, CA), selon les conditions réactionnelles présentées dans le **Tableau 11** en thermocycleur CFX 96 real Time Systems, C 1000™ (Biorad).

Tableau 11 : Conditions réactionnelles des analyses qPCR permettant d'estimer les densités de la communauté bactérienne totale et des populations d'*Hyphomicrobium* et de *Thiobacillus thioparus*.

	Communauté bactérienne totale	<i>Hyphomicrobium</i>	<i>Thiobacillus thioparus</i>
Master Mix SsoFast EvaGreen® Supermix	1X	1X	1X
Amorce	0,25 µM	0,50 µM	0,50 µM
Amorce	0,25 µM	0,50 µM	0,50 µM
ADN	2 µL	2 µL	2 µL
Eau ultra pure	10 µL	10 µL	10 µL

Le programme est détaillé dans le **tableau 12** :

Tableau 12 : Programme utilisé pour les analyses qPCR permettant d'estimer les densités de la communauté bactérienne totale et des populations d'*Hyphomicrobium* et de *Thiobacillus thioparus*.

	Communauté bactérienne totale		<i>Hyphomicrobium</i>		<i>Thiobacillus thioparus</i>	
Etape	Durée	Température	Durée	Température	Durée	Température
Activation de l'enzyme	2 min	98°C	1 min	95°C	2 min	95°C
Dénaturation	10 sec	98°C	2 sec	95°C	20 sec	95°C
Hybridation - Elongation	20 sec	57°C	1 sec	60°C	30 sec	57°C
Nombre de cycles	47		45		45	
Courbe de fusion	65°C à 95°C		65°C à 95°C		65°C à 95°C	

Les qPCR réalisées ont fourni des efficacités globalement supérieures à 90% pour tous les standards. Pour tous les échantillons, la spécificité des amplicons est vérifiée par la détermination des courbes de fusion de ces derniers.

La méthode de qPCR est basée sur la détermination du « cycle seuil », c'est à dire le nombre de cycles d'amplification nécessaire pour que le niveau de fluorescence émis par les fragments amplifiés dépasse un certain seuil.

Chaque réaction comprend, en plus des échantillons environnementaux, un contrôle négatif (eau ultra pure) et une gamme standard qui permet de déterminer la relation entre le cycle

seuil ($C(t)$) déterminé à partir des courbes de fluorescence et le nombre de copies du gène cible (**figure 25 et 26**). La gamme standard est réalisée à l'aide d'un plasmide TOPO TA Cloning[®] (INTROVIGEN, Carlsbad, USA) dans lequel est cloné le gène d'intérêt. Dans le cadre de notre étude, il s'agit du gène de l'ADNr 16S incluant les amorces V3F et V3R pour quantifier les bactéries totales, les amorces Hypho F et Hypho R ainsi que Thio F et Thio R, pour quantifier les populations d'*Hyphomicrobium* et *Thiobacillus thioparus* respectivement.

La gamme est composée de 3 triplicats allant de 79 à $7,9 \cdot 10^8$ copies du plasmide TOPO TA Cloning[®]-16S/ μL , de duplicats allant de $12,2 \cdot 10^2$ à $12,2 \cdot 10^7$ copies du plasmide TOPO TA Cloning[®]-*Hyphomicrobium*/ μL et de duplicats allant de $2,8 \cdot 10^2$ à $2,8 \cdot 10^7$ copies du plasmide TOPO TA Cloning[®]-*T. thioparus*/ μL (**figure 25**).

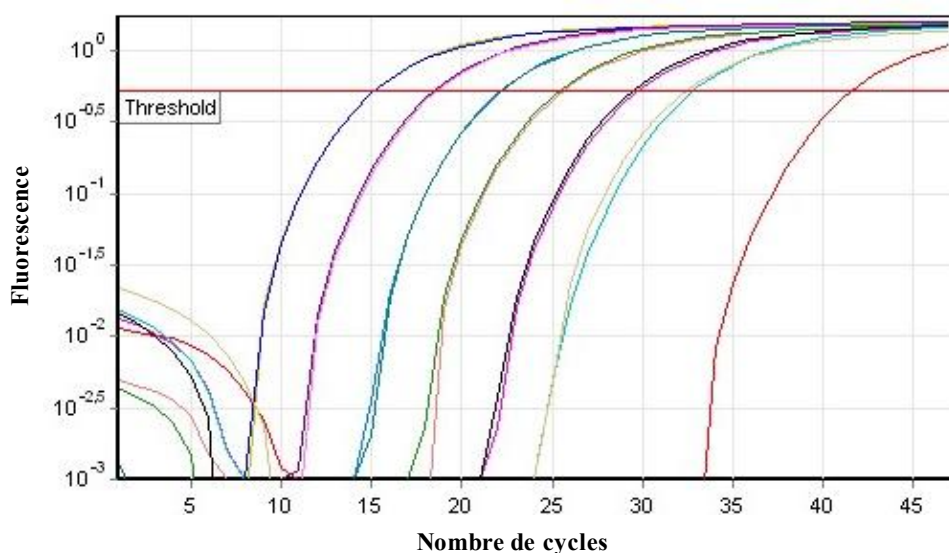


Figure 25 : Courbes d'amplification de la qPCR ADNr-16S-*T.thioparus* obtenues pour les points de la gamme et le témoin négatif (rouge) permettant de déterminer le cycle seuil. Le cycle seuil est défini par l'intersection avec la droite de fluorescence « seuil » (droite horizontale rouge).

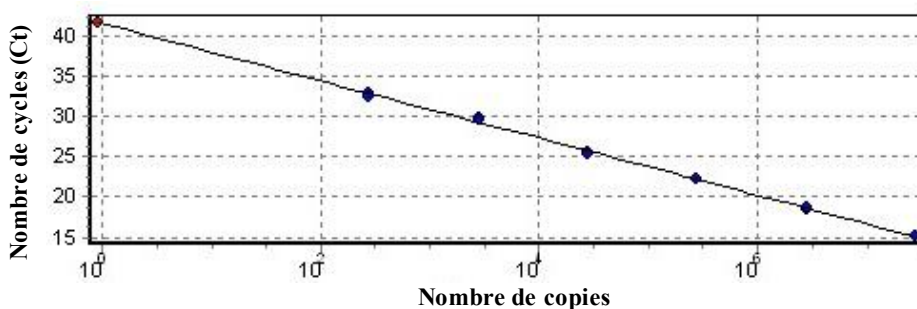


Figure 26 : Exemple de gamme standard obtenue pour la qPCR ADN τ -16S-*T.thioparus* et le témoin négatif (rouge).

L'équation de la droite obtenue à partir de la gamme standard permet de relier la valeur du cycle seuil $C(t)$ d'un échantillon au nombre de copies du gène d'intérêt dans l'échantillon.

3.3. Résultats et discussion

Dans le cadre de cette étude, les biofiltres BFA, BFB et BFC sont garnis par trois matériaux (plaquettes papetières, fibre de coco et écorces de pin) disposés en strates de 20 cm de la façon suivante : plaquettes papetières, fibre de coco, plaquettes papetières, fibre de coco, écorces de pin (cf § 3.2.4.). L'utilisation de différents matériaux disposés en strates n'ayant pas fait l'objet de travaux disponibles à notre connaissance, il est donc nécessaire, dans un premier temps, d'évaluer les performances d'une unité pilote garnie selon la procédure décrite ci-dessus et de comparer les résultats obtenus avec ceux de la littérature. Pour faciliter cette analyse comparative, il nous a semblé pertinent, dans le cadre de notre étude, de générer un effluent gazeux contenant des composés soufrés (H_2S , DMS et DMDS).

A l'issue de cette étape, les potentialités du couplage de deux procédés biologiques (filtre percolateur/biofiltre) mis en œuvre pour traiter un mélange de composés soufrés ont été examinées. La concentration des composés soufrés est constante pendant toute la durée de l'expérience.

La géométrie du réacteur (diamètre : 30 cm ; hauteur de garnissage : 1 m) ainsi que les paramètres opératoires ont été choisis de manière à mettre en œuvre des unités pilotes les plus représentatives possibles des biofiltres industriels utilisés pour le traitement d'effluent gazeux émis par les équarrissages. Le sens de circulation de l'effluent gazeux est à courant ascendant. La vitesse de passage du gaz est de 100 m.h^{-1} .

3.3.1. Impact de la stratification de différents matériaux supports sur le traitement d'un effluent gazeux mono-polluant : l' H_2S

L'efficacité d'élimination de l' H_2S (27 mg.m^{-3} en entrée soit une charge entrante (faible) d'environ $2,7 \pm 0,66 \text{ g d}'H_2S.\text{m}^{-3} \text{ de garnissage.h}^{-1}$) a été mesurée sur une période d'étude de 60 jours en sortie du biofiltre BF H_2S et sur toute la hauteur de colonne garnie à 10, 30, 50, 70 et 90 cm de l'entrée de l'effluent synthétique au sein du bioréacteur (figure 26).

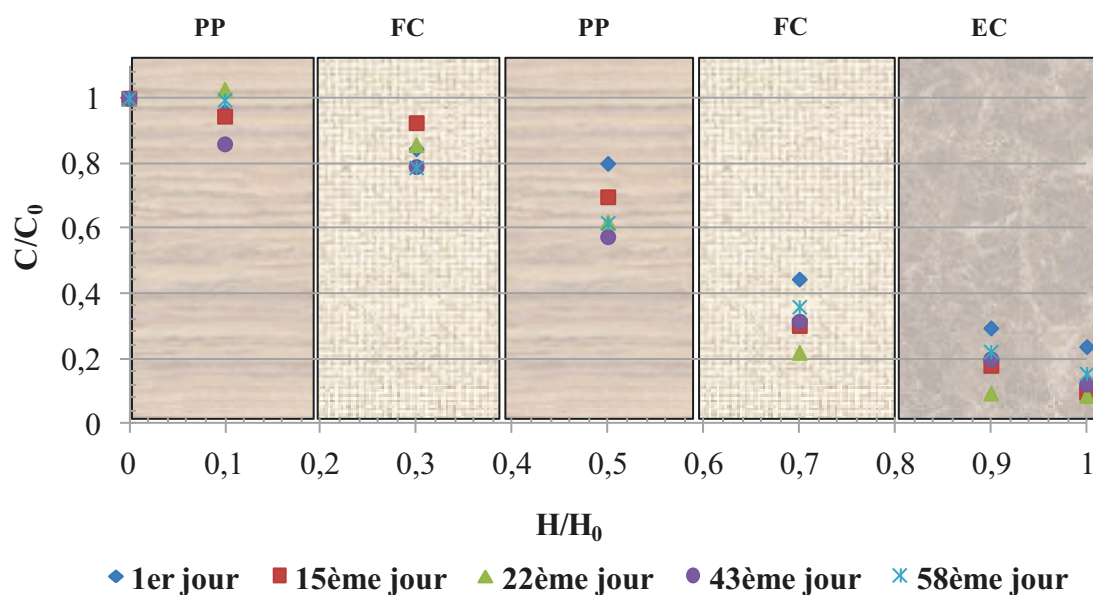


Figure 27 : Profils de concentrations de l' H_2S en fonction du temps et de la hauteur de garnissage pour le biofiltre BFH $_2\text{S}$.

D'après la **figure 27**, l'efficacité d'élimination de l' H_2S est d'environ 77% dès le 1^{er} jour en sortie de colonne. Après 15 jours de fonctionnement, le niveau d'abattement de l' H_2S se situe autour de 90% soit une capacité d'élimination proche de 2,67 g $\text{H}_2\text{S} \cdot \text{m}^{-3}$ garnissage. h^{-1} . L'élimination de ce composé est quasiment totale (95%) après une vingtaine de jours de fonctionnement du bioréacteur. Ces résultats mettent donc en évidence que la hauteur de colonne garnie est nécessaire pour épurer l'effluent gazeux.

L'évolution de l'efficacité d'élimination en fonction de la hauteur de colonne révèle un profil de type inversement exponentiel, la majeure partie de la biodégradation de l' H_2S s'effectuant entre 30 et 70 cm de hauteur (70% de la quantité d' H_2S entrant). Ce type de profil a déjà été observé dans le cadre du traitement de charges plus importantes en H_2S de l'ordre de 20 g d' $\text{H}_2\text{S} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$ (Fanlo, 1994) par des biofiltres garnis de boues d'épuration conditionnées sous forme de granulé.

Comme indiqué sur la figure, l' H_2S est essentiellement éliminé au niveau des strates de fibre de coco et de plaquettes papetières, la quantité résiduelle étant dégradée au niveau de la strate d'écorces de pin.

La biofiltration de l' H_2S a fait l'objet d'un grand nombre de travaux à l'échelle du laboratoire (Iranpour et al., 2005). L'impact du matériau sur les taux d'abattement de l' H_2S a été examiné par différents auteurs.

Certains mettent en évidence que la nature et les caractéristiques du matériau support ont une influence sur les performances atteintes par les biofiltres. L'étude de Ma et al. (2006) révèle que le rendement d'élimination de l' H_2S est de 99% et 93%, respectivement pour des biofiltres garnis de charbon actif et de plaquettes papetières, pour une charge volumique entrante élevée de $10 \text{ kg H}_2\text{S} \cdot \text{m}^{-3} \text{ garnissage} \cdot \text{h}^{-1}$, alors que les performances atteintes par les biofiltres garnis par de la tourbe granulaire (0 - 10 mm) et de la céramique (6 - 8 mm) sont moins élevées 87 et 83% respectivement).

En revanche, d'autres auteurs mettent en évidence que la nature du matériau support n'a pas d'influence sur le niveau de performances obtenu. Filho et al. (2010) observent des performances équivalentes (efficacité d'élimination supérieure à 99%), que le matériau support utilisé soit de nature organique (bagasse de canne à sucre, fibre de coco) ou synthétique (mousse de polyuréthane), avec pour inoculum des boues de stations d'épuration. En fonction de la charge entrante, les capacités d'élimination s'échelonnent entre 18 - 67, 19-69 et 19-73 g d' $\text{H}_2\text{S} \cdot \text{m}^{-3} \text{ garnissage} \cdot \text{h}^{-1}$ pour la mousse de polyuréthane, la fibre de coco et la bagasse de canne à sucre, respectivement. Il convient de noter que le pH au sein des différentes unités pilotes était maintenu à la neutralité.

De même, les travaux de Dumont et al. (2008) révèlent que la nature du matériau support, qu'elle soit organique (écorces de pin), synthétique ou inorganique (pouzzolane) n'a pas d'influence sur le niveau d'efficacité d'élimination atteint. Les rendements d'élimination les plus élevés (> 97%) sont atteints pour des charges volumiques de l'ordre de 2-3 g d' $\text{H}_2\text{S} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$, quel que soit le matériau considéré. L'inoculum utilisé est généraliste (boues de stations d'épuration) et le pH n'a pas été régulé pendant la durée de l'essai, comme dans le cadre des travaux de thèse. Il convient toutefois de noter que les performances du système évoluent en fonction de la charge entrante en H_2S .

Cette analyse comparative semble donc montrer que les niveaux d'efficacité d'élimination atteints sont généralement élevés (de l'ordre de 90-100%) pour des charges similaires à celle appliquée dans le cadre de notre étude ($2-3 \text{ g d'H}_2\text{S} \cdot \text{m}^{-3} \text{ garnissage} \cdot \text{h}^{-1}$), quel que soit le matériau support (organique, inorganique ou synthétique). Ainsi, les niveaux d'abattement de l' H_2S sont similaires à ceux observés dans le cas de l'utilisation d'un seul matériau support comme garnissage.

L'étude d'un effluent gazeux mono-polluant constitué d' H_2S , nous a permis de valider l'utilisation de différents matériaux de garnissage disposés sous forme de strates (plaquette papetière/fibre de coco/écorce de pin). L'intérêt de la superposition de différents matériaux

sous forme de strates permettrait, sur site industriel, de réduire le coût lié au remplissage du biofiltre ou au renouvellement du garnissage, les biofiltres industriels étant, dans la plupart des cas, garnis par un mélange homogène de différents matériaux supports de nature organique.

Cette structuration sera donc utilisée pour la suite des travaux qui s'attachent à traiter un effluent gazeux complexe composé d'un mélange de soufrés (DMS, DMDS).

Notre choix s'est orienté vers une superposition en strate de trois matériaux organiques dont leurs caractéristiques sont en adéquation avec une utilisation en tant que de garnissage de biofiltre.

3.3.2. Traitement d'un effluent gazeux complexe (DMDS, DMS et H₂S) par biofiltration

3.3.2.1. Performances globales

Il convient de rappeler que le mélange de composés soufrés contient de l'H₂S (concentration de 30 mg.m⁻³ en entrée de bioréacteur soit une charge entrante d'environ 3,00 ± 0,66 g d'H₂S.m⁻³ de garnissage.h⁻¹) et deux composés soufrés organiques (DMS et DMDS). La concentration de chaque composé soufré organique est de 20 mg.m⁻³ soit une charge entrante d'environ 2,00 ± 0,37 g DMS (ou DMDS).m⁻³ de garnissage.h⁻¹. L'efficacité d'élimination des composés constituant le mélange a été suivie pendant une période de 100 jours dans des conditions stables de fonctionnement.

L'efficacité d'élimination globale des réacteurs BFA et BFB est de 84 % (± 3%).

3.3.2.2. Performances détaillées

- **Cas de l'H₂S**

L'analyse des résultats met en évidence l'élimination complète de l'H₂S dès les premiers jours (3^{ème} jour pour BFA et BFB) en accord avec les résultats obtenus pour le BFH₂S (**figure 17**).

- **Cas du DMS et du DMDS**

La **figure 28** présente l'évolution de l'efficacité d'élimination des composés soufrés organiques (DMS et DMDS) par les biofiltres BFA et BFB sur une période de 100 jours.

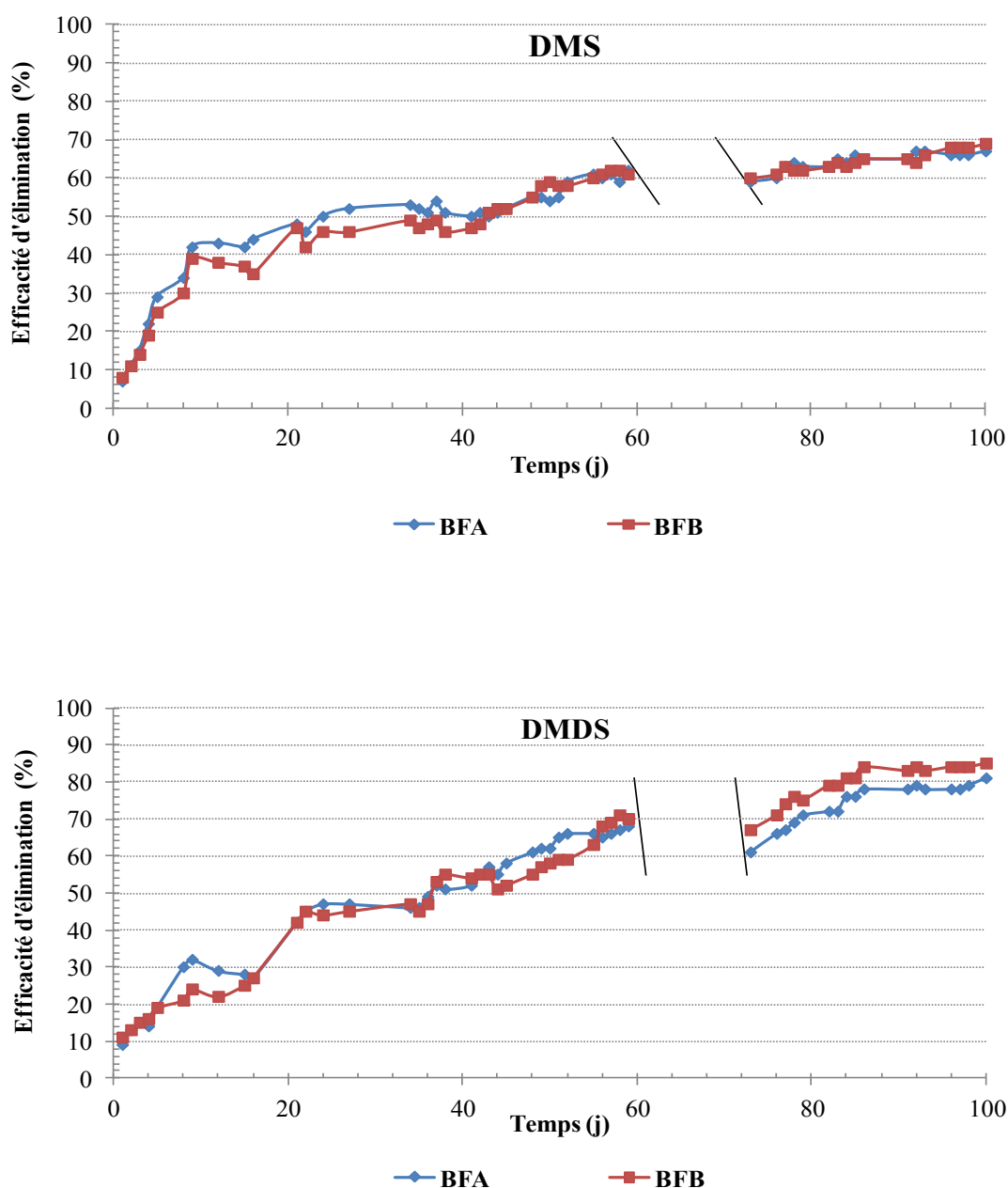


Figure 28 : Efficacité d'élimination du DMS et du DMDS par BFA et BFB en fonction du temps respectivement. \ : arrêt compresseur au 59^{ème} jour (pendant 6 jours), reprise de l'efficacité d'avant l'arrêt au 73^{ème} jour.

L'évolution de l'efficacité d'élimination du DMS et du DMDS (**figure 27**) est similaire pour BFA et BFB. L'état stationnaire est atteint à partir du 85^{ème} jour, le taux d'abattement des DMS et DMDS sont d'environ 65-70% et 80% respectivement pour les biofiltres dupliqués.

Le délai nécessaire pour atteindre l'état stationnaire est important (85 jours). Différentes hypothèses peuvent être suggérées. Le développement de populations bactériennes ayant la

capacité à dégrader ses deux composés peut être freiné par la disponibilité en substrat ou/et des phénomènes de compétition avec d'autres populations (celles dégradant l' H_2S) (Tresse et al., 2003 ; Sercu et al., 2004, 2006). Les résultats complémentaires détaillés par la suite permettront d'affiner ces hypothèses.

Le bilan soufre sur les biofiltre BFA et BFB (détail du calcul en **annexe 8**) a été réalisé à l'état stationnaire (entre $t = 82$ et $t = 100$ jour) en considérant le ratio massique de la quantité de soufre entrante sous forme H_2S , DMS et DMDS à l'état gazeux par rapport à la quantité de soufre sous forme de sulfate dans la phase aqueuse et de composés soufrés à l'état gazeux non consommé. La proportion de soufre non récupéré est inférieure à 1% pour les deux biofiltres. Néanmoins, il convient de préciser que ce bilan ne prend pas en compte l'assimilation du soufre par la biomasse (synthèse d'acides aminés soufrés) ainsi que la fraction de polluants solubilisés non biodégradés et les métabolites réactionnels intermédiaires présents dans le biofilm. Cette fraction est probablement faible pour deux principales raisons : les composés soufrés utilisés dans le cadre de ces travaux sont hydrophobes et les cinétiques de dégradation des intermédiaires réactionnels (méthanethiol et H_2S) sont probablement plus élevées que l'étape précédente (transformation du DMS ou du DMDS en méthanethiol). D'après les voies de dégradation de ces composés soufrés, ces résultats confirment la biodégradation de ces trois composés soufrés par la biomasse au sein de ces biofiltres.

Ces résultats (**figure 27**) révèlent que les composés soufrés organiques sont plus difficilement biodégradables que l'hydrogène sulfuré. D'après la littérature, les performances d'épuration de ces composés en système mono-polluant sont très élevées (de 99 à 100%) au sein de ces réacteurs (Chung et al., 2005 ; Ramirez et al., 2009 ; Arellano-Garcia et al., 2010). Le traitement de ces composés en mélange a été rarement étudié. Néanmoins, les quelques travaux réalisés mettent en évidence que les niveaux d'abattement des DMS et DMDS sont nettement inférieurs à ceux observés dans le cadre de notre étude : efficacité d'élimination de l'ordre de 30 et 55% pour les DMS et DMDS respectivement en mélange avec l' H_2S (Deshusses et al., 2000). Cette différence peut s'expliquer par l'émergence de communautés fonctionnelles particulièrement actives dans le cas de notre étude. Il est probable que l'utilisation de matériaux organiques de composition différente puisse favoriser le développement de communautés influencées par la biomasse endogène initialement fixée. La détermination de l'origine des communautés microbiennes qui s'implantent au sein de biofiltres a révélé que la communauté est principalement influencée par la composition de la

biomasse endogène du support, et dans une moindre mesure, par l'apport de l'inoculum (Stoffels et al., 1998 ; Tresse et al., 2002 ; Cabrol et al., 2012).

Différents travaux (Ramirez et al., 2012 ; Soupramanien et al., 2012) ont mis en évidence un ordre de biodégradation de ces composés soufrés, dans le cas de la mise en œuvre de biofiltres ou de microcosmes dans lesquels la biomasse est planctonique. Il a été observé que les DMDS et le DMS sont plus difficilement biodégradables que l' H_2S et le méthylmercaptan.

Cet ordre de biodégradation peut s'expliquer par une combinaison de phénomènes physico-chimiques et biologiques (Aizpuru et al., 2001).

Le passage du polluant de la phase gazeuse à la phase liquide a lieu en accord avec les lois physiques décrivant les transferts de phase. Ainsi, à l'équilibre, la part de composé entre la phase gazeuse et aqueuse est décrite par la loi de Henry. Les concentrations dans l'eau sont proportionnelles à celles dans l'air, avec une constante de proportionnalité caractéristique du polluant qui est sa constante de Henry. Cette constante est typiquement exprimée en atm.L.mol^{-1} décrivant le ratio de la pression partielle du composé en phase gazeuse sur la concentration du composé en phase aqueuse. Cette constante peut être également exprimée sous la forme adimensionnelle (rapport de la concentration du composé dans la phase gazeuse sur la concentration du composé dans la phase liquide) (Sander, 1999). La disponibilité du substrat dans la phase aqueuse (biofilm) peut donc être estimée par sa constante de Henry : $H = C_G/C_L$. **Le tableau 13** présente les valeurs adimensionnelles de l'inverse de la constante de Henry pour les trois composés soufrés (Sander, 1999 ; Schuhfried et al., 2011).

Tableau 13 : Inverse de la Constante de Henry à 20°C pour les trois composés soufrés (H_2S , DMS, DMDS) (Sander, 1999).

	H_2S	DMS	DMDS
Constante de Henry (H^{-1})	2,4	14,7	20,0

L'analyse des valeurs de la constante de Henry (constante adimensionnelle) pour ces différents composés révèle d'une part que ces composés sont peu transférables dans la phase aqueuse et d'autre part que la disponibilité de l'hydrogène sulfuré est moins élevée que celle des composés soufrés organiques pour lesquels les valeurs de la constante de Henry sont plus proches (DMDS, DMS, MM). Or, il est observé que l' H_2S est plus facilement biodégradable que les DMS et DMDS.

L'ordre d'élimination de ces composés est également influencé par l'activité biologique des communautés fonctionnelles dont la cinétique de dégradation (Aizpuru et al., 2001 ; Gabriel et al., 2007, Cabrol et Malhautier, 2011b).

3.3.2.3. Profils de concentration des composés soufrés en fonction de la hauteur de colonne

- **Cas de l'H₂S**

La hauteur de colonne nécessaire à l'élimination de l'H₂S est de 10 cm sur toute la durée de l'expérience pour BFA et BFB. Si les niveaux de performance sont similaires dans le cas du traitement de l'H₂S seul au sein du BFH₂S (cf § 3.3.1.) ou en mélange, l'analyse comparative des résultats obtenus met en évidence des différences en termes de hauteur nécessaire à l'élimination de ce composé. Les facteurs susceptibles d'expliquer ces résultats semblent être liés aux conditions opératoires et à l'inoculation.

Il convient de rappeler les éléments suivants :

- ✓ Le pH de la phase aqueuse du biofiltre (BFH₂S) n'a pas été régulé au cours du temps, les valeurs de pH diminuant progressivement de 5,6 à 1 pendant la durée de l'expérience (30 jours). En revanche, le pH de la phase aqueuse des biofiltres (BFA et BFB) a été maintenu à la neutralité (7-7,5).
- ✓ L'inoculum utilisé pour l'ensemencement de BFH₂S peut être qualifié de généraliste (boues activées issues d'une station de traitement d'eaux usées urbaines) alors que BFA et BFB ont été ensemencés avec une communauté microbienne acclimatée aux composés soufrés (équarrissage).
- ✓ Enfin, le mode d'inoculation du biofiltre BFH₂S diffère de celui de BFA et de BFB : immersion du matériau au sein des boues activées pendant 24 heures pour le biofiltre BFH₂S et recirculation de l'inoculum pendant 24h pour les autres bioréacteurs.

D'après les résultats obtenus, les conditions opératoires dont le pH de la phase aqueuse pourraient avoir un impact sur l'activité des communautés microbiennes et par conséquent sur les performances des bioprocédés. Le mode d'inoculation peut également avoir une influence sur la formation du biofilm et par voie de conséquence sur le développement de populations adaptées aux conditions opératoires du biofiltre.

De plus, la composition microbienne de l'inoculum pourrait également influencer les performances atteintes par le système biologique même si le rôle de l'inoculum, acclimaté ou non, dans l'implantation de la communauté au sein des biofiltres est controversé (Cabrol, 2010). Certains travaux ont mis en évidence l'intérêt de l'inoculation des bioréacteurs par une biomasse acclimatée afin d'accélérer la prise d'efficacité et d'atteindre des performances supérieures (Leson and Smith, 1997 ; Prado et al., 2005).

Les résultats obtenus concernant la dégradation de l' H_2S corroborent ceux de Prado et al. (2005), la hauteur de colonne nécessaire à l'élimination de l' H_2S étant largement inférieure (10 cm) pour les bioréacteurs inoculés avec une biomasse acclimatée que dans le cas d'un bioréacteur inoculé avec une communauté « généraliste » (1 m). Bien que l'intérêt de l'inoculation ait été montré d'un point de vue fonctionnel (efficacité d'élimination), son impact à long terme d'un point de vue microbien est souvent sujet à discussion. Des études montrent qu'au sein de réacteurs réalisant la même fonction et dont les conditions opératoires sont identiques, mais inoculés différemment, des communautés distinctes se développent à long terme. Le développement de ces communautés a clairement été impacté par l'histoire et l'origine de l'inoculum (Khammar et al., 2005 ; Sercu et al, 2005-a, Legrand, 2011). A l'inverse, d'autres études ont montré que l'enrichissement de l'inoculum au contact du polluant à traiter n'était pas suffisant pour sélectionner une communauté apte à s'implanter dans le réacteur (Stoffels et al, 1998 ; Tresse et al, 2002). Les conditions opératoires auraient un impact plus important sur la communauté que la composition initiale de l'inoculum comme cela a été mis en évidence récemment dans le cadre du traitement d'un effluent gazeux représentatif d'émissions de compostage (Cabrol et al., 2012) ou dans le cas d'un effluent mono-polluant (DMS) (Legrand, 2011).

Cependant, dans le cadre de notre étude, il n'est pas possible de distinguer/quantifier l'influence de l'inoculum, d'une part, et des conditions opératoires (mode d'inoculation et pH), d'autre part, sur les performances atteintes par les biofiltres en termes de biodégradation de l' H_2S .

Néanmoins, l'analyse de ces résultats avec ceux de la littérature permet de dégager les conclusions suivantes.

Les populations microbiennes impliquées dans la dégradation de l' H_2S tolèrent de larges gammes de pH : l' H_2S est éliminé au sein d'environnements à pH neutre comme à pH acide (**cf fig.17 chap.2**) (Easter et al., 2005). Il est également fort probable que l'émergence de populations spécifiques soit favorisée par les conditions du réacteur : les populations se développant à pH neutre diffèrent probablement de celles à pH acide. Des populations

acidophiles ou neutrophiles ont été identifiées par différents auteurs (Kelly et al., 1989 ; Kasakura et al., 1995). D'autres genres bactériens tels que *Xantomonas* ou *Methylophaga* sont aussi connus pour dégrader cette molécule (Ruokojärvi et al., 2001). Les populations neutrophiles se développant au sein de BFA et BFB peuvent présenter des avantages compétitifs tels qu'un taux de croissance supérieur et une meilleure affinité pour le substrat à l'origine de performances supérieures pour ces bioréacteurs.

L'intérêt de l'inoculation des bioréacteurs par une biomasse acclimatée afin d'accélérer la prise d'efficacité et d'atteindre des performances supérieures a été mis en évidence dans le cadre de cette étude, la hauteur de colonne nécessaire à l'élimination de l' H_2S étant largement inférieure (10 cm) pour les bioréacteurs inoculés avec une biomasse acclimatée que dans le cas d'un bioréacteur inoculée avec une communauté « généraliste » (1 m).

Enfin, le mode d'inoculation peut avoir un impact sur la formation du biofilm et par voie de conséquence sur l'émergence de populations qui se sont adaptées aux conditions opératoires du biofiltre.

Les résultats obtenus concernant la dégradation de l' H_2S semblent révéler que la combinaison des conditions opératoires ainsi que la composition de l'inoculum induisent l'émergence de populations spécifiques, celles se développant au sein des BFA et BFB étant plus compétitives que celles colonisant le biofiltre BFH $_2$ S.

- **Cas du DMS et du DMDS**

La **figure 29** présente les distributions longitudinales de la dégradation des DMS et DMDS au début de l'expérience (t = 9 jour), à t = 59 jour et à l'état stationnaire (t = 100 jour).

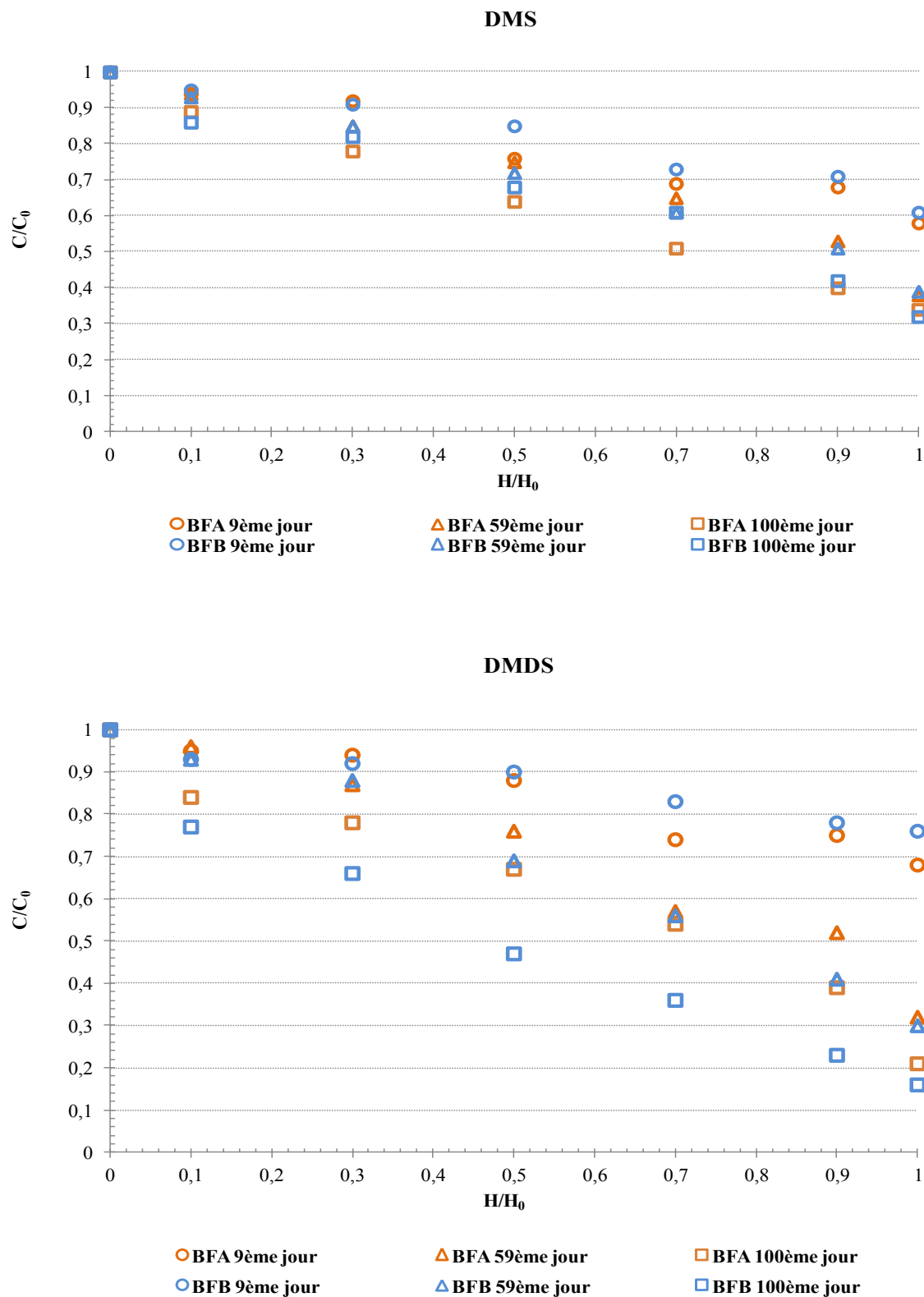


Figure 29 : Profils de concentrations du DMS et du DMDS en fonction de la concentration et de la hauteur de garnissage pour les biofiltres BFA, BFB.

Les profils de concentration du DMS et du DMDS évoluent de manière similaire dans le temps pour les duplicats. Si les profils de concentration sont linéaires dès le début de l'expérience, la pente des droites de régression en fonction du temps augmente. Cette évolution peut s'expliquer par l'implantation d'une microflore active en termes de dégradation de ces composés.

La **figure 30** représente le profil de concentration moyen du DMS et DMDS à l'état stationnaire (de $t = 85$ à $t = 100$ jour) pour BFA et BFB (9 profils). L'évolution de la concentration du DMS et DMDS en fonction de la hauteur de colonne étant similaire pour BFA et BFB, les valeurs moyennes sont portées sur la figure ci-dessous.

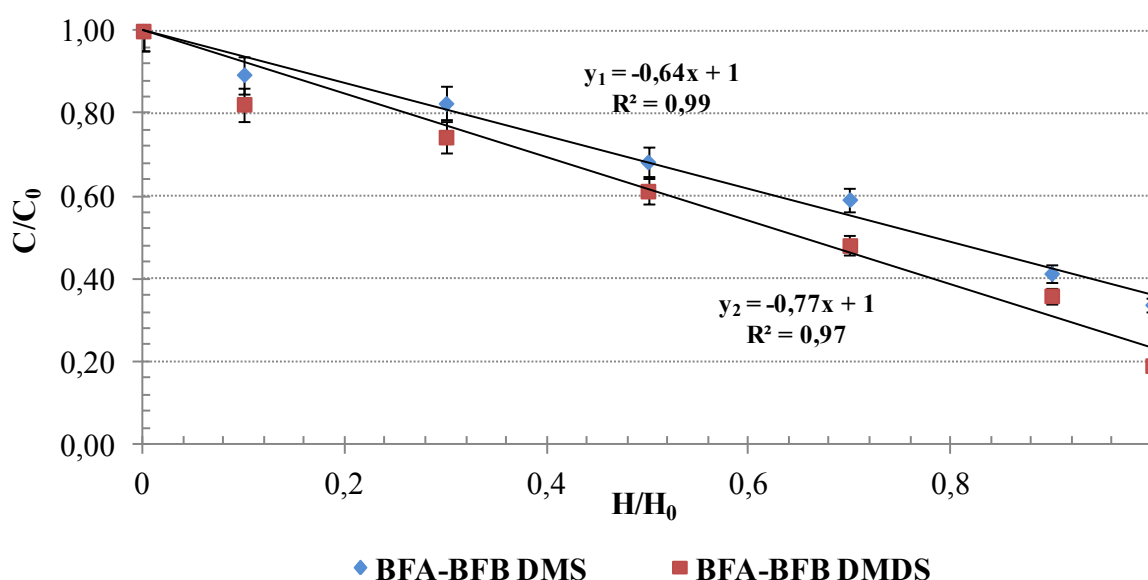


Figure 30 : Moyenne des profils de concentration du DMS et du DMDS en fonction de la hauteur de garnissage pour les biofiltres BFA et BFB à l'état stationnaire de $t = 85$ à $t = 100$ jour.

Ce type de profil a été observé dans le cas du traitement du DMS en mélange avec des composés plus biodégradables (cétone et aldéhyde) par des biofiltres dupliqués et garnis par un matériau organique (fibre de coco) (Gadal-Mawart, 2012). En considérant, pour chaque composé, la hauteur nécessaire pour atteindre un abattement de 50% comme indice de performance ($H_{1/2}$), la valeur obtenue dans le cadre de notre étude (0,75 m pour le DMS) est du même ordre de grandeur que celle observée par Gadal-Mawart (2012). L'analyse de ces résultats semble indiquer à nouveau que la disposition de différents matériaux en strates sur

toute la hauteur de colonne n'influe pas sur les performances atteintes par ces biofiltres concernant la dégradation de composés soufrés.

Cette distribution linéaire des activités de biodégradation pourrait être due à une limitation par la réaction (dégradation des composés) (Devinny et al., 1999 ; Aizpuru et al., 2003). La cinétique de dégradation de ces deux composés par les microorganismes (faibles affinité pour le substrat et vitesse de dégradation) pourrait ainsi expliquer la distribution de l'activité de biodégradation (Aizpuru et al., 2003).

En conclusion de ce paragraphe, au sein des biofiltres BFA et BFB, un ordre de biodégradation s'établit dans le temps (cinétiques de dégradation) et dans l'espace (stratification des activités), confirmant les observations de Mathur et al., 2008 ; Sempere et al., 2008 et Cabrol et al., 2012. Les résultats mettent en évidence que l' H_2S est éliminé sur les 10 premiers cm de colonne alors que les niveaux d'abattement des DMS et DMDS atteignent 70 et 80% respectivement en sortie de colonne.

Ce phénomène peut s'expliquer par une compétition de substrats. En présence de différents substrats, une population potentiellement capable de dégrader chaque substrat peut opérer un shift métabolique vers la consommation d'un substrat préférentiel (H_2S dans notre cas) au détriment d'un substrat plus récalcitrant (DMS ou DMDS dans notre cas) (Santos et al., 2000 ; Cabrol et Malhautier, 2011b). Cette hypothèse de compétition de substrats se traduit par une communauté microbienne plutôt homogène sur la hauteur de colonne, en dépit d'une stratification des activités de dégradation. Une autre explication serait liée à un mécanisme de compétition de populations. Les populations impliquées dans la dégradation de l' H_2S d'une part et des DMS et DMDS d'autre part peuvent être caractérisées par des taux de consommation d'oxygène et de croissance différents (Lee et al., 2006 ; Qi et al., 2006), ce qui se traduit par une compétition des souches pour l'espace et l'oxygène (Deshusses et al., 1999 ; Lee et al., 2009). Le substrat le plus facilement biodégradable est consommé préférentiellement par la population qui a le taux de croissance ou de consommation d'oxygène le plus élevé, colonisant l'espace ou épuisant l'oxygène au détriment de la population consommant le substrat plus récalcitrant et caractérisée par un taux de croissance ou de consommation d'oxygène moins élevé.

Il semble donc intéressant de connaître l'implantation de la communauté bactérienne au sein de ces biofiltres dupliqués. Deux indicateurs ont été considérés : la densité de peuplement et la structure de la communauté bactérienne totale au sein des biofiltres. De plus, deux populations impliquées dans la dégradation des composés soufrés ont fait l'objet d'une

attention particulière. La densité de peuplement de ces populations a été estimée en utilisant des amorces spécifiques.

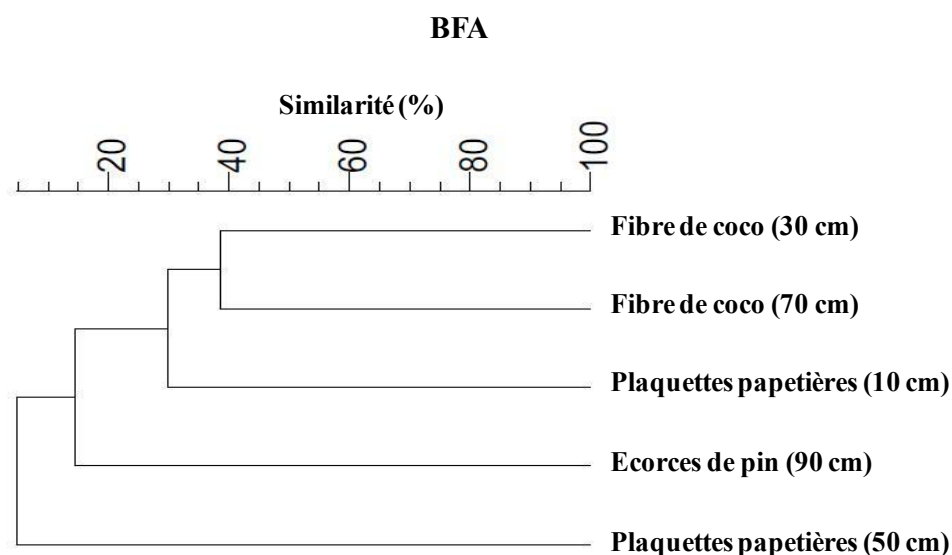
3.3.2.4. Approche de la composante microbienne

- **Densité de la communauté bactérienne totale**

En termes de densité (nombre de copies/ng d'ADN extrait), les microorganismes totaux sont uniformément répartis sur toute la hauteur de colonne, quel que soit le biofiltre (valeur moyenne de $5,2E+06 \pm 3,5E+06$ pour BFA et $4,9E+06 \pm 3,9E+06$ pour BFB).

- **Analyse par PCR-DGGE**

La **figure 31** ci-dessous présente les profils PCR-DGGE obtenus à partir d'échantillons de matériaux prélevés sur toute la hauteur de colonne pour les biofiltres dupliqués.



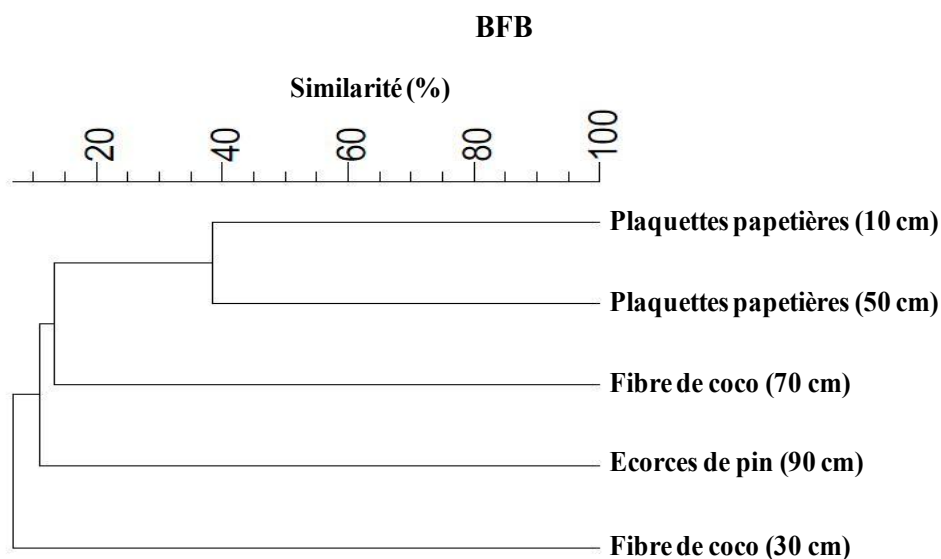


Figure 31 : Représentation de la structure des communautés au sein des biofiltres BFA et BFB garnis de plaquettes papetières (10 et 30 cm) ; fibre de coco (50 et 70 cm) et écorces de pin (90 cm). Clustérisation basée sur l'analyse des positions et des intensités relatives des bandes détectées sur profil DGGE. Le dendrogramme est construit selon la méthode UPGMA à partir de la matrice des similarités calculées par l'indice de Bray-Curtis.

Comme l'indique la **figure 31** ci-dessus, une structuration différente de la communauté bactérienne est observée pour BFA et BFB après 100 jours de fonctionnement des bioréacteurs. Ce résultat laisse suggérer une divergence structurelle entre duplicats, malgré la reproductibilité fonctionnelle (efficacité d'élimination des polluants à traiter). Cette divergence peut être reliée à la redondance fonctionnelle (communautés de composition différente capables d'exercer la même fonction globale (Franklin et Mills, 2006) ainsi qu'à la diversité de la source dont est issue la métacommunauté (Curtis et Sloan, 2004). Dans le cadre de ces travaux, nous nous sommes focalisés sur la communauté bactérienne totale. Il convient de noter que, dans la plupart des cas, la communauté active ou une communauté fonctionnelle n'ont pas les mêmes caractéristiques, ne subissent pas les mêmes impacts opératoires et n'exercent pas la même influence sur la fonction (Cabrol et Malhautier, 2011a). Il nous a donc semblé intéressant d'étudier la structuration (en termes de densités de peuplement) de deux populations fonctionnelles d'intérêt (*Hyphomicrobium* et *Thiobacillus thioparus*), ces populations ayant été identifiées comme ayant la capacité à dégrader les DMS et DMDS.

- **Analyse par qPCR**

La **figure 32** présente la distribution de la densité des bactéries totales ainsi que des populations d'*Hyphomicrobium* et de *Thiobacillus thioparus* sur la hauteur de colonne.

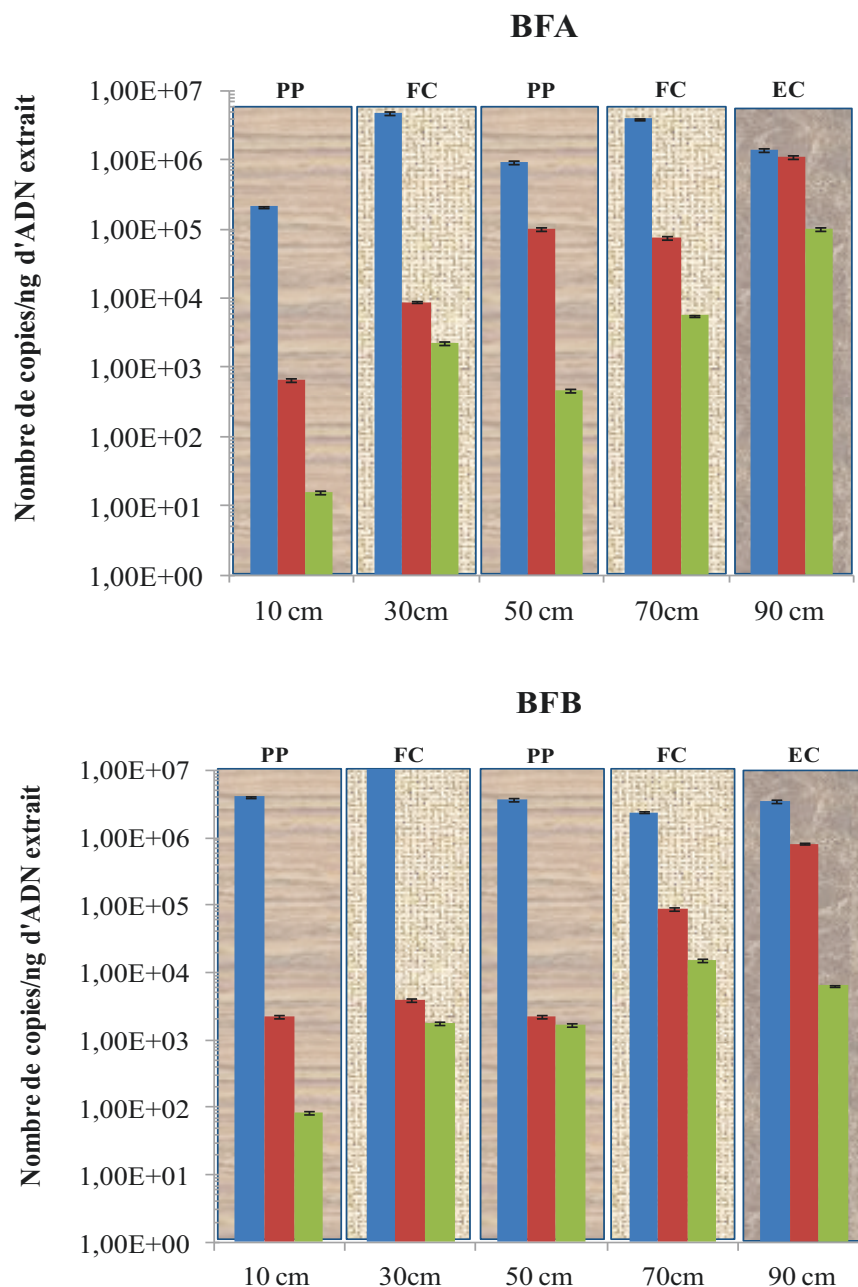
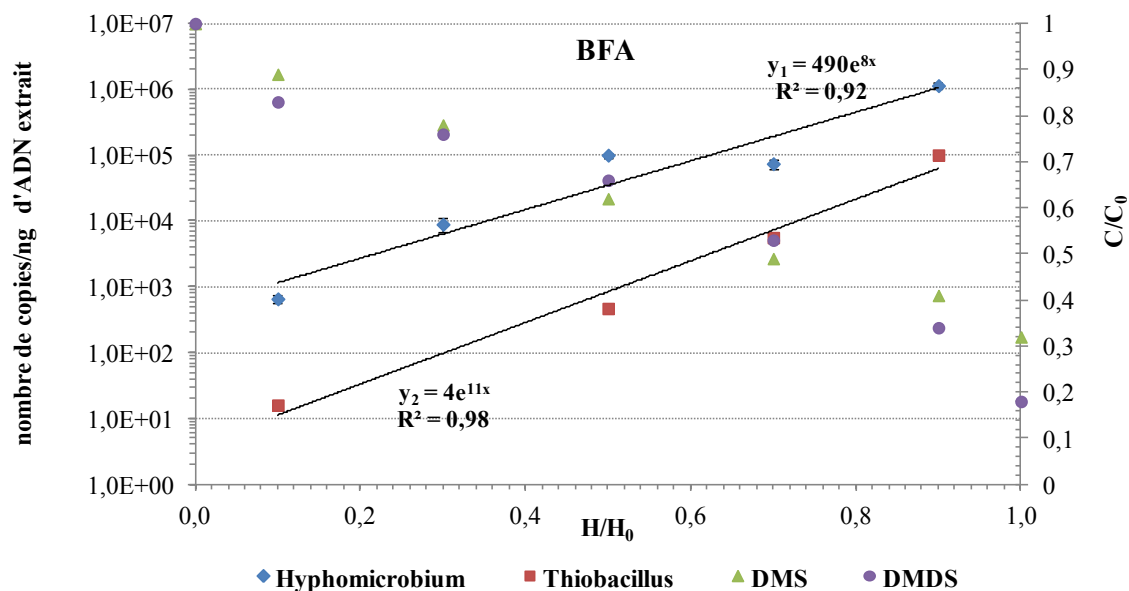


Figure 32 : Nombre de copies du gène de l'ADNr-16S (région V3) ■, permettant de dénombrer la communauté bactérienne totale, du gène ADNr-16S permettant de dénombrer la population *Hyphomicrobium* ■, et du gène ADNr-16S permettant de dénombrer la population de *Thiobacillus thioparus* ■, à partir échantillons des biofiltres BFA et BFB. PP : Plaquettes papetières ; FC : Filtre percolateur ; EC : Ecorces de pin.

L'analyse de la distribution des densités de deux populations connues pour être impliquées dans la dégradation de ces composés soufrés révèle une augmentation linéaire des densités d'*Hyphomicrobium* en fonction de la hauteur de colonne (de $6,6\text{E}+02 \pm 1,75\text{E}+02$ à $1,1\text{E}+06 \pm 4,1\text{E}+05$ pour BFA et de $2,2\text{E}+03 \pm 9,6\text{E}+02$ à $8,2\text{E}+05 \pm 2,6\text{E}+04$ pour BFB). Il en est de même pour les effectifs de *Thiobacillus thioparus* sur BFA ($1,6\text{E}+01 \pm 1,0\text{E}+01$ à $1,0\text{E}+05 \pm 1,4\text{E}+04$) alors que sur BFB, l'augmentation linéaire des valeurs de densité semble moins marquée. Il convient de noter que *Thiobacillus thioparus* est détecté en bas de colonne mais les effectifs sont faibles ($1,6\text{E}+01 \pm 1,0\text{E}+01$ et $8,3\text{E}+01 \pm 1,1\text{E}+01$ pour BFA et BFB respectivement).

Les densités de population d'*Hyphomicrobium* sont plus élevées sur BFA ($2,6\text{E}+05 \pm 2,7\text{E}+05$) que sur BFB ($2,2\text{E}+04 \pm 4,83\text{E}+04$).

Pour mieux visualiser ces résultats de densités, la **figure 33** présente les profils de densité de peuplement des genres *Hyphomicrobium* et *Thiobacillus thioparus* en fonction de la hauteur de colonne pour BFA et BFB respectivement. Les profils de dégradation des DMS et DMDS ont été également rajoutés sur la figure.



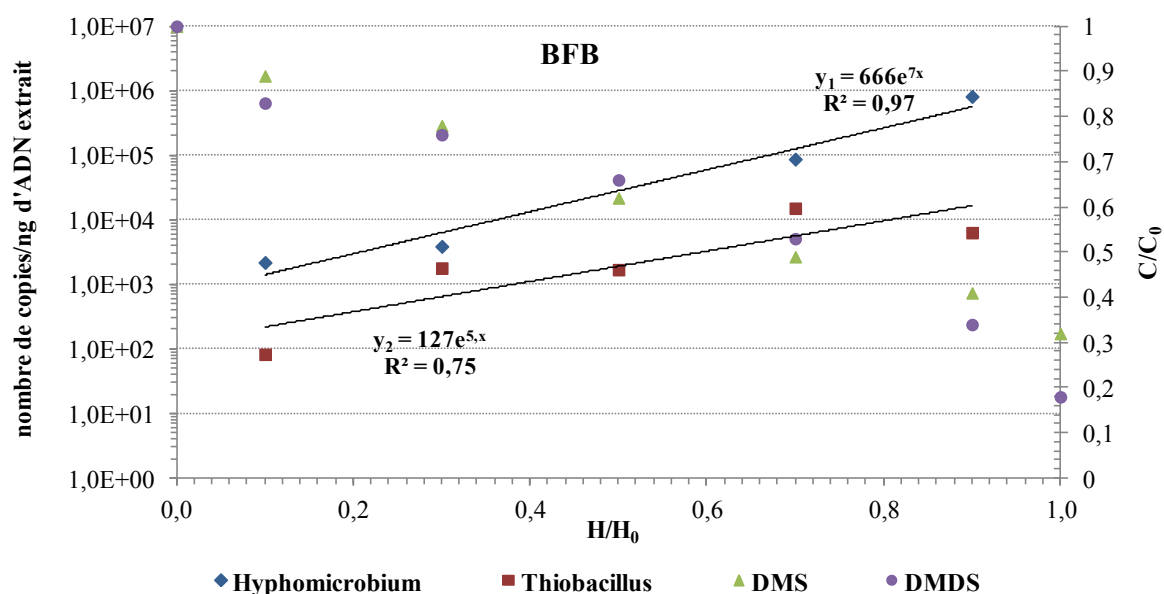


Figure 33 : Profil de densité de peuplement pour les populations d'*Hyphomicrobium* et de *Thiobacillus thioparus* (obtenu à partir des échantillons des biofiltres BFA et BFB) et profil de concentration du DMS et du DMDS en fonction de la hauteur de colonne. y_1 : courbe de tendance d'*Hyphomicrobium* ; y_2 : courbe de tendance de *Thiobacillus thioparus*.

L'augmentation linéaire des densités bactériennes sur toute la hauteur de colonne a été observée par différents auteurs (Juteau et al., 1999 ; Borin et al., 2006 ; Cabrol et al., 2012).

La colonisation des matériaux supports par les populations d'*Hyphomicrobium* et de *Thiobacillus thioparus* au sein des biofiltres BFA et BFB permet de suggérer que ces populations seraient impliquées dans la dégradation de ces deux composés. Comme mentionné précédemment, ces microorganismes ont été répertoriés dans la littérature comme possédant la capacité à dégrader les composés soufrés : H_2S , mercaptans et sulfures pour *Thiobacillus thioparus* ; mercaptans et sulfures pour *Hyphomicrobium*.

Dans le cadre de notre étude, les résultats obtenus semblent révéler que la population de *Thiobacillus thioparus* est sensible ($1,6E+01$ et $8,3E+01$ pour BFA et BFB respectivement) à la présence d' H_2S en bas de colonne alors que son développement ne semble pas être affecté par les niveaux de concentration du DMS et DMDS sur la majeure partie de la colonne (au-delà de 30 cm). Il est probable également que d'autres populations plus compétitives occupent cette tranche du réacteur (0-30 cm) au détriment de la population ciblée. Des phénomènes de compétition entre les populations consommant l' H_2S et celles dégradant les DMS et DMDS favoriseraient la prédominance de celles impliquées dans la dégradation de l' H_2S dans cette portion de colonne.

L'augmentation linéaire des densités d'*Hyphomicrobium* et de *Thiobacillus thioparus* en fonction de la hauteur de colonne peut donc être reliée à la stratification des activités de biodégradation (dégradation de l' H_2S sur les 10 premiers cm de colonne puis des autres composés soufrés sur les 90 cm de hauteur restants). De plus, ce résultat tendrait également à indiquer que cette population pourrait être inhibée par les substrats et/ou par les sous-produits de dégradation que sont le méthane-thiol et l' H_2S , d'après les voies métaboliques identifiées à ce jour.

Il convient de souligner que les analyses qPCR réalisées ne ciblent pas la communauté active en termes de dégradation mais la présence d'une population, les amorces spécifiques étant obtenues à partir de l'ADNr-16S. Pour mieux comprendre les mécanismes biologiques régissant la dégradation biologique des composés soufrés, il serait pertinent d'évaluer les populations fonctionnelles réellement impliquées dans la dégradation de ces composés soufrés en ciblant un/des gènes de fonction (gène SoxB par exemple impliqué dans la dégradation de l' H_2S) (Cabrol et Malhautier, 2011a ; Gadal-Mawart, 2012) ou d'autres gènes de fonction impliqués dans la dégradation biologique des DMS et DMDS comme les gènes de fonction impliqués dans la déméthylation du DMS en méthane-thiol d'une part et/ou la transformation de ce dernier en hydrogène sulfuré. A ce jour, les populations et les réactions biologiques associées sont mal connues. En outre, les outils moléculaires permettant de cibler ces microorganismes ne sont pas disponibles, même si des travaux sont menés pour élucider ces mécanismes biologiques de dégradation du DMS et du DMDS (Schäfer et al., 2010 ; Boden et al., 2011 ; Gadal-Mawart, 2012).

3.3.3. Evaluation du couplage filtre percolateur/biofiltre (FP/BFC) pour le traitement d'un mélange complexe de composés soufrés (H_2S , DMS et DMDS)

3.3.3.1. Performances globales

L'efficacité d'élimination globale du couplage est de $95\% \pm 1\%$. Celles-ci sont plus élevées que celles observées lors du traitement de cet effluent multi-composés par biofiltration (de l'ordre de 15% plus élevé $\pm 2\%$).

3.3.3.2. Performances détaillées

- **Cas de l'H₂S**

L'H₂S est totalement éliminé au sein du filtre percolateur dès le démarrage de l'expérience. Ce résultat n'est pas surprenant car la charge appliquée est faible ($\sim 3 \text{ g H}_2\text{S.m}^{-3}$ garnissage.h⁻¹) et le temps de séjour en fût vide élevé de 36 s. Des niveaux d'abattement similaires ont été atteints dans le cas du traitement d'H₂S seul à des charges volumiques nettement plus élevées pouvant atteindre 20 g.m^{-3} garnissage.h⁻¹ et des temps de séjour de l'ordre de 10 - 20 s, le pH de la phase aqueuse étant également maintenu à des valeurs proches de la neutralité (Jin et al., 2005 ; Aroca et al., 2007 ; Ramirez et al., 2009). De plus, d'autres travaux ont mis en évidence que les capacités d'élimination atteintes par les filtres percolateurs peuvent excéder $100 \text{ g d'H}_2\text{S.m}^{-3}$ de garnissage.h⁻¹ pour des temps de séjour en fût vide de l'ordre de 2 à 3 secondes mais le pH de la phase aqueuse est plus acide (2 - 4) (Chen, 2010 ; Chunjing et al., 2011 ; Deng et al., 2012).

Dans le cadre de cette étude, il n'a pas été possible de connaître la hauteur de colonne nécessaire à l'élimination de ce composé. Il est probable que l'H₂S soit éliminé au sein du biofilm se formant sur le garnissage et par la microflore planctonique dont la composition peut différer de celle du biofilm (Sercu et al, 2005).

- **Cas du DMS et du DMDS**

La **figure 34** représente l'évolution du taux d'abattement de ces deux composés par le couplage FP/BFC.

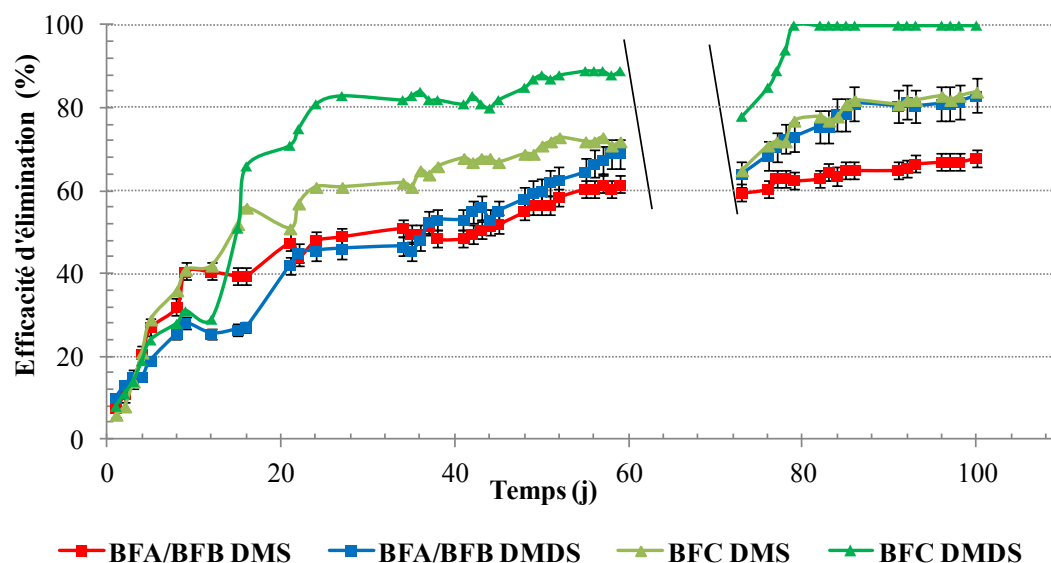


Figure 34 : Evolution de la biodégradation du DMS et du DMDS sur BFA/BFB (moyenne) et BFC. \ : arrêt compresseur au 59^{ème} jour (pendant 6 jours). Récupération de l'efficacité d'avant l'arrêt au 73^{ème} jour.

Les DMDS et le DMS ne sont pas éliminés au sein du FP. L'effluent gazeux alimentant le biofiltre contient donc uniquement du DMS et DMDS. Ce résultat peut s'expliquer par l'absence d'une biomasse adaptée à la dégradation de ces composés, par des phénomènes d'exclusion compétitive (inhibition par d'autres populations dégradant l' H_2S par exemple), par la différence des cinétiques de dégradation de l' H_2S par rapport à celles des DMS et DMDS ou par un environnement défavorable à leur développement (disponibilité en substrat). Les conditions opératoires au sein du FP peuvent effectivement induire une limitation du transfert des polluants de la phase gazeuse vers la phase aqueuse. Dans ce cadre, il aurait été intéressant d'étudier l'influence de la diminution du débit d'aspersion du garnissage sur le transfert et l'abattement de ces composés.

Le DMDS est totalement dégradé à l'état stationnaire après 80 jours de fonctionnement du couplage. Le niveau d'abattement du DMS est de 84% à l'état stationnaire. Après trois mois de fonctionnement, le taux d'abattement des DMS et DMDS au sein de BFC est supérieur (de l'ordre de 15 à 20%) à celui observé en sortie des biofiltres BFA et BFB. Ce travail a donc permis de révéler les potentialités du couplage FP/BFC pour améliorer l'élimination des DMS et DMDS. Néanmoins, concernant le FP, l'ajustement de conditions opératoires est nécessaire pour améliorer la capacité du FP à dégrader non seulement l' H_2S mais aussi les composés plus récalcitrants.

Le bilan soufre a été évalué pour le couplage FP/BFC, les résultats sont donnés dans le **tableau 14**. Le calcul du bilan est donné en **annexe 8**.

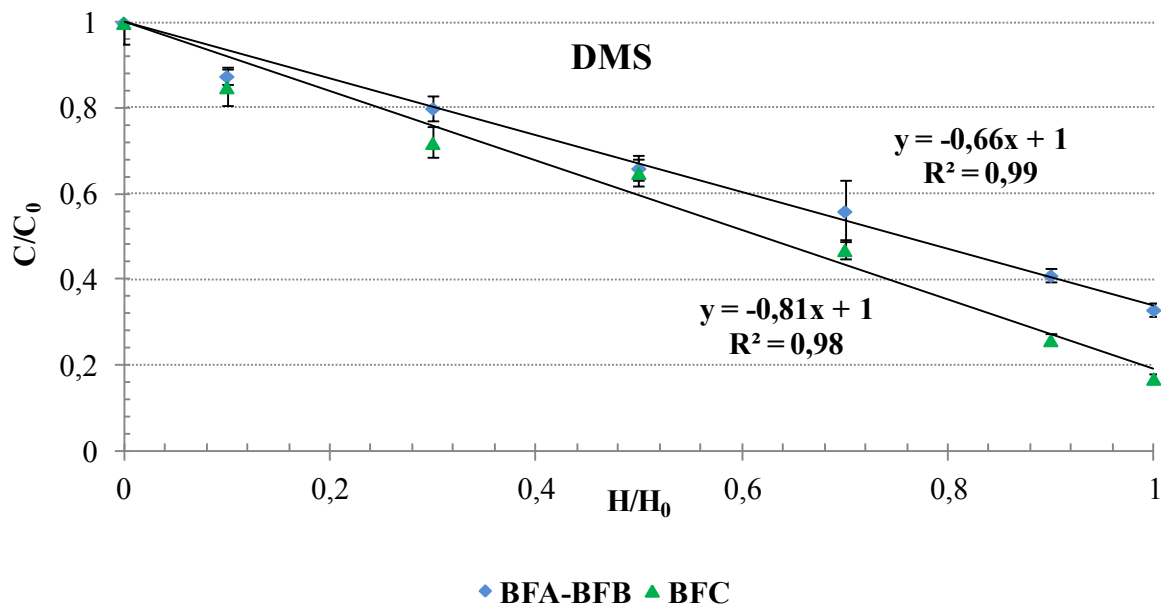
Tableau 14 : Bilan soufre déterminé pour les Biofiltres BFA et BFB et le couplage FP/BFC.

	BFA	BFB	FP	BFC
Erreur bilan soufre (%)	0,4	-0,7	-18,3	-0,3

L'erreur de bouclage est quasiment nulle pour BFC, comme pour BFA et BFB. En revanche, l'erreur est plus élevée (environ 10%) pour le filtre percolateur. Ce résultat peut s'expliquer par une surestimation de la teneur en sulfates liée à la technique analytique utilisée.

3.3.3.3. Profils de concentration du DMS et du DMDS en fonction de la hauteur de colonne pour BFC

La **figure 35**, représente les profils de concentration du DMS et du DMDS en fonction de la hauteur de colonne à l'état stationnaire (ES1 au 102^{ème} jour).



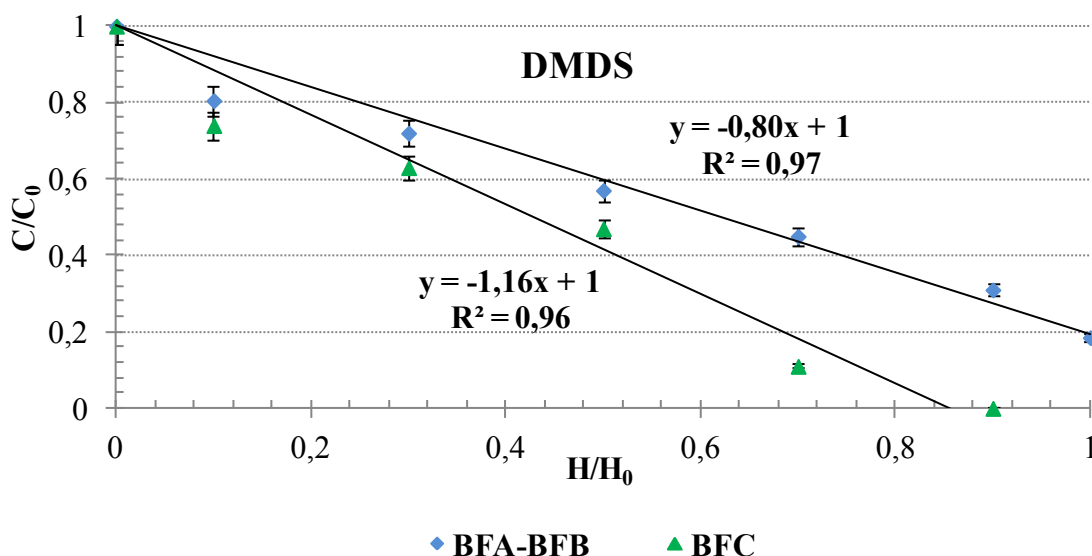


Figure 35 : Profils de concentrations moyens du DMS et du DMDS en fonction de la hauteur de garnissage pour les biofiltres BFA/BFB (moyenne) et le biofiltre (BFC) couplé au filtre percolateur (FP) à l'état stationnaire ES1 (102^{ème} jour).

La cinétique de dégradation des deux composés est plus élevée au sein de BFC (pente de 0,8 et 1,2 pour DMS et DMDS respectivement) par rapport à BFA/BFB (pente de 0,7 et 0,8 pour DMS et DMDS respectivement). De plus, il convient de préciser que le DMDS est totalement éliminé sur une hauteur de 85 cm pour BFC alors que la hauteur totale de colonne est nécessaire pour éliminer 80% de la quantité de DMDS entrant pour BFA/BFB à l'état stationnaire. Ce résultat met également en évidence que le DMS est plus récalcitrant à la dégradation que le DMDS.

3.3.3.4. Approche de la composante microbienne

- **Dénombrement des bactéries totales par qPCR**

Tout comme BFA et BFB, les microorganismes totaux sont uniformément répartis sur toute la hauteur de colonne, (valeur moyenne de $5,7E+06 \pm 5,9E+06$ pour BFC). Les densités de peuplement sont équivalentes à celles mesurées pour BFA et BFB (en moyenne $3,6E+06 \pm 1,1E+06$).

Les valeurs de densité des bactéries totales au sein de la phase aqueuse du FP sont de $1,1E+06$ copies d'ADNr-16S / ng ADN extrait.

- **Analyse de la structure des communautés par PCR-DGGE**

La structuration de la communauté bactérienne totale au sein de BFC diffère de celle de BFA et BFB (**Annexe 9**). Ce résultat n'est pas surprenant car la pression de sélection imposée par la composition du gaz en entrée diffère entre BFA/BFB et BFC. La composition du gaz en entrée de BFC ne contient pas d' H_2S , celui-ci étant totalement éliminé au sein du FP. Comme précédemment pour BFA et BFB, la structuration (en termes de densités de peuplement) de deux populations fonctionnelles d'intérêt (*Hyphomicrobium* et *Thiobacillus thioparus*) a été évaluée.

- **Analyse par qPCR**

Au sein du FP, la population *Thiobacillus thioparus* a été identifiée, toutefois les niveaux de densité sont faibles ($4,4\text{E}+01$ copies d'ADNr-16S *Thiobacillus thioparus* / ng ADN extrait). Il peut être suggéré que les conditions opératoires au sein du FP ne favorisent pas le développement de cette population (Maestre et al., 2007). Ce résultat peut également s'expliquer par l'exclusion compétitive (Steele et al., 2005) se traduisant par l'émergence d'autres populations plus compétitives au détriment de *Thiobacillus thioparus*. Les niveaux de densité de la population *Hyphomicrobium* sont plus élevés ($1,5\text{E}+03$ copies d'ADNr-16S *Hyphomicrobium*/ng ADN extrait). D'après la bibliographie, cette population serait impliquée préférentiellement dans la dégradation des composés soufrés organiques.

Néanmoins, la dégradation des DMS et DMDS n'est pas observée au sein du FP. La présence de cette population permet de suggérer les hypothèses suivantes : les conditions opératoires permettent le maintien de cette population, celle-ci assimilant les débris cellulaires issus d'autres microorganismes ou/et serait impliquée dans la dégradation de l' H_2S .

Les analyses qPCR réalisées à partir d'échantillons de BFC mettent en évidence une évolution similaire à celle observée pour BFA et BFB quel que soit le groupe bactérien considéré (**figure 36**).

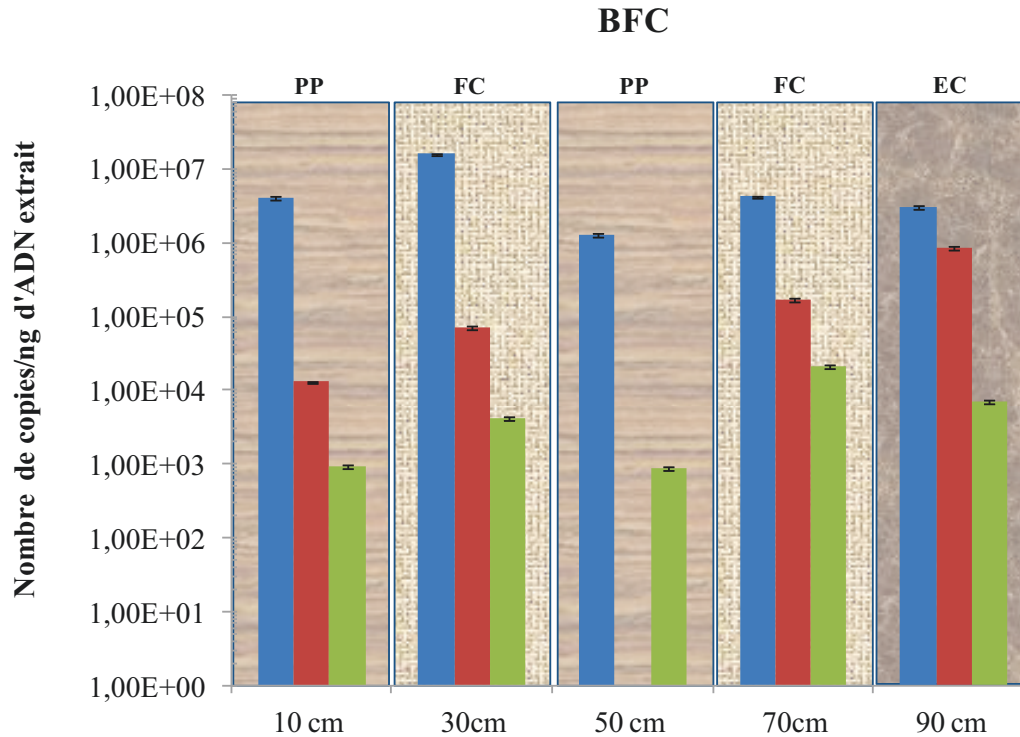


Figure 36 : Nombre de copies du gène de l'ADNr-16S région V3 ■ permettant de dénombrer la communauté bactérienne totale, du gène ADNr-16S permettant de dénombrer la population *Hyphomicrobium* ■ et du gène ADNr-16S permettant de dénombrer la population de *Thiobacillus thioparus* ■ à partir échantillons des biofiltres BFA et BFB.

- ✓ La distribution des densités de la population *Hyphomicrobium* en fonction de la hauteur de colonne augmente linéairement sur toute la hauteur de colonne (de $1,3E+04 \pm 0,8E+05$ à $8,7E+05 \pm 1,0E+05$). Il convient de noter que l'analyse qPCR de l'échantillon correspondant à *Hyphomicrobium* à mi-hauteur (50 cm) de colonne n'a pas permis d'obtenir des résultats exploitables.
Néanmoins, les valeurs de densité de cette population semblent plus élevées au sein de BFC que pour BFA/BFB.
- ✓ Les effectifs de *Thiobacillus thioparus* demeurent assez stables sur toute la hauteur de colonne (autour de 10^3 nombre copies). La répartition des densités de *Thiobacillus thioparus* en fonction de la hauteur de colonne diffère donc de celle observée pour BFA et BFB (**figure 36**).

La **figure 37** présente les profils de densité de peuplement des populations *Hyphomicrobium* et *Thiobacillus thioparus* en fonction de la hauteur de colonne pour BFA et BFB et BFC, ainsi que la communauté bactérienne totale.

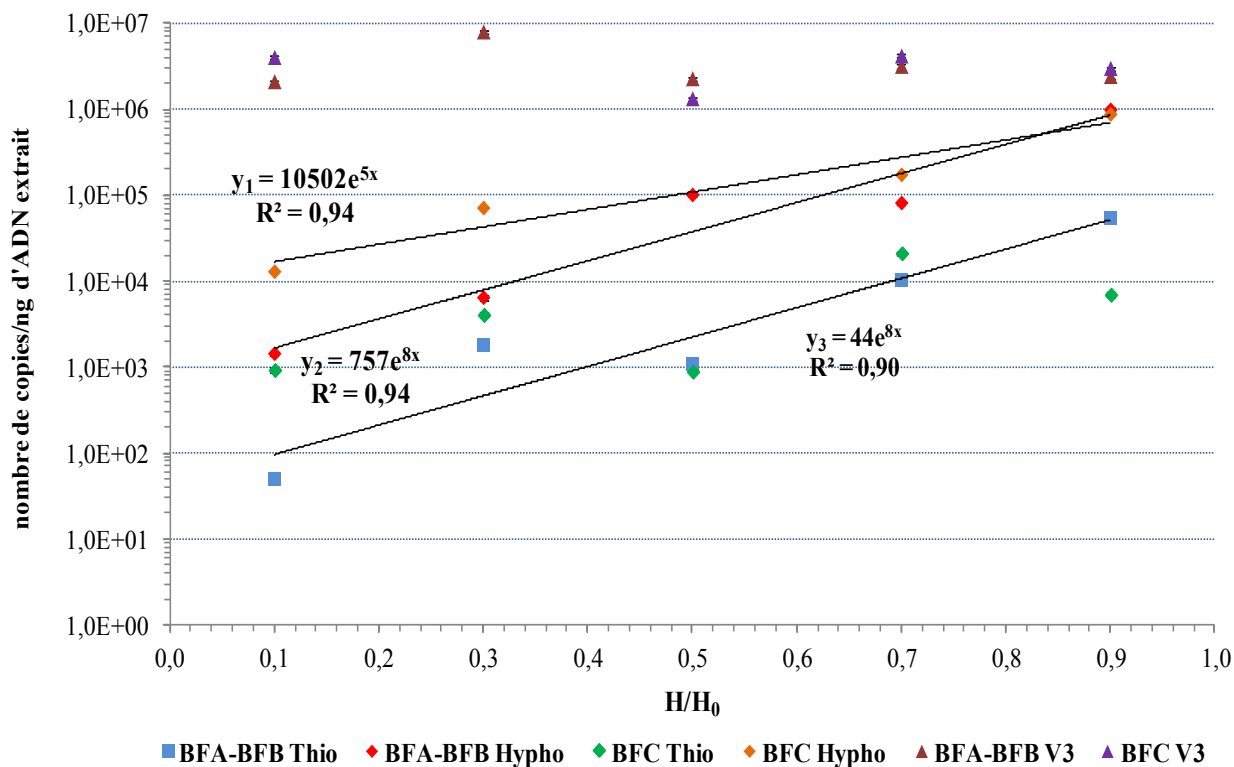


Figure 37 : Profils de densité de peuplement des genres *Hyphomicrobium* et *Thiobacillus thioparus* ainsi que la communauté bactérienne totale, en fonction de la concentration et de la hauteur de garnissage pour les biofiltres BFA/BFB (moyenne) et le biofiltre (BFC) couplé au filtre percolateur (FP). y_1 : courbe de tendance BFC Thio ; y_2 : courbe de tendance BFA-BFB Hypho, y_3 : courbe de tendance BFA-BFB Thio.

Les populations *Hyphomicrobium* et *Thiobacillus thioparus* tendent à être réparties de manière plus homogène au sein de BFC que de BFA-BFB. Ce résultat peut être dû à la pression de sélection imposée par la composition du gaz à traiter : l'effluent gazeux alimentant BFC contenant seulement les composés soufrés organiques. La pression de sélection exercée sur BFC tendrait à induire une répartition plus homogène des densités de ces deux populations au sein du bioréacteur. Les analyses qPCR ont mis en évidence la présence d'*Hyphomicrobium* ($1,5E+03 \pm 0,8E+02$) au sein de la phase aqueuse du filtre percolateur. Si les niveaux de densité sont inférieurs à ceux mesurés à partir de prélèvement des matériaux supports garnissant BFC, ces résultats semblent montrer que les conditions opératoires au sein du FP ne sont pas défavorables au développement de cette population. L'ajustement de

certaines conditions opératoires dont le débit de recirculation de la phase aqueuse permettant d'améliorer la biodisponibilité en substrat pourrait favoriser l'émergence de cette population au niveau du filtre percolateur et par voie de conséquence initier la dégradation des DMS et DMDS au niveau de la première étape du couplage.

Ces résultats de densité nous renseignent sur la distribution de ces populations au sein des bioréacteurs. Pour approfondir la connaissance des mécanismes biologiques de dégradation, l'évaluation de leur activité au sein de ces systèmes complexes est déterminante.

3.4. Conclusion

Dans le cas du traitement d'un mélange de composés soufrés, les travaux réalisés ont mis en évidence l'intérêt du couplage lit percolateur/biofiltre qui permet d'améliorer sensiblement les performances atteintes par un biofiltre seul. L' H_2S et le DMDS sont complètement éliminés et le taux d'abattement du DMS est de l'ordre de 80-85%. Néanmoins, l'ajustement des conditions opératoires pour le filtre percolateur (débit de recirculation de la phase liquide) permettrait probablement d'améliorer les performances obtenues en initiant la dégradation des composés plus récalcitrants (DMS et DMDS) au sein du filtre percolateur et par voie de conséquence d'épurer totalement le gaz pollué.

Les densités de peuplement des bactéries totales au sein du biofiltre BFC relié au filtre percolateur FP sont similaires à celles observées au sein des biofiltres BFA et BFB et sont homogènes sur toute la hauteur de colonne. En revanche, la distribution de *Hyphomicrobium* et de *Thiobacillus thioparus* tend à s'homogénéiser au sein du biofiltre BFC relié au FP. L' H_2S étant totalement dégradé au sein du filtre percolateur dès la mise en route du couplage, il semblerait que la pression de sélection imposée par la composition du gaz en entrée du biofiltre induit une colonisation plus homogène des matériaux supports par ces deux populations, ce résultat suggère leur implication dans la biodégradation du DMS et du DMDS. Néanmoins, il convient de rappeler que ces résultats de densité ne nous renseignent pas sur l'activité de ces populations mais seulement sur leur distribution au sein des bioréacteurs.

Cette étude a permis également d'aborder d'autres questionnements concernant notamment la reproductibilité au sein de réacteurs de biofiltration. Si, dans le cadre du traitement des composés soufrés, la reproductibilité fonctionnelle (abattement des composés) a été observée, la reproductibilité en termes de structure de la communauté bactérienne totale ou de populations spécifiques a été également soulignée (à un instant donné) par l'évaluation de la distribution des densités de peuplement au sein des bioréacteurs. Cette reproductibilité fonctionnelle et structurelle a été observée pour d'autres biofiltres traitant un effluent gazeux complexe et dans le cadre de travaux étudiant la dynamique temporelle des communautés microbiennes (Cabrol et al., 2012). Afin de confirmer cette tendance, il serait intéressant de poursuivre les travaux en associant la reproductibilité fonctionnelle avec la reproductibilité structurelle pour des populations fonctionnelles, c'est à dire impliquées dans la dégradation des composés soufrés.

Enfin, ces travaux ont permis de valider l'utilisation de différents matériaux supports disposés sous forme de strates (plaquette papetière/fibre de coco/écorce de pin) comme garnissages de biofiltres. Cette superposition de différents matériaux présente un intérêt sur site industriel, car elle permettrait de réduire le coût lié au remplissage du biofiltre ou au renouvellement du garnissage, les biofiltres industriels étant, dans la plupart des cas, garnis par un mélange homogène de différents matériaux supports de nature organique.

Ces travaux ont été réalisés dans des conditions stationnaires. Cependant, à l'échelle industrielle, l'activité fluctuante du process se traduit par une forte variabilité de l'effluent gazeux, en termes de concentration et de composition, qui peut perturber le fonctionnement des systèmes biologiques de traitement (Kraakman, 2003). Il apparaît donc important dans la dernière partie de ce travail, d'évaluer l'impact de perturbations sur les performances du couplage.

Chapitre 4 :

Stratégie de perturbation du système sur
le couplage de bioprocédés et biofiltre
seul et mise en situation d'un filtre
percolateur sur site industriel

4.1. Introduction

Le chapitre précédent consistait à évaluer les potentialités du couplage de deux procédés biologiques (filtre percolateur/biofiltre) utilisé pour traiter un mélange de composés soufrés réduits (DMS et DMDS) et de l' H_2S . Les performances obtenues par le couplage lit percolateur/biofiltre ont été comparées avec celles atteintes par deux biofiltres utilisés comme référence. Ce travail a mis en évidence que les performances épuratoires atteintes par le couplage lit percolateur/biofiltre sont nettement supérieures à celles obtenues lorsqu'un biofiltre seul est mis en œuvre.

A l'échelle industrielle, l'activité fluctuante des procédés de traitement des déchets (compostage, équarrissage) se traduit par une variabilité de l'effluent gazeux, en termes de composition et de concentration. Cette variabilité peut perturber le fonctionnement des procédés biologiques de traitement. Il apparaît donc pertinent d'évaluer la robustesse du couplage filtre percolateur/biofiltre soumise à des perturbations transitoires. L'approche expérimentale développée dans ce quatrième et dernier chapitre se base sur les travaux réalisés au sein du LGEI par Cabrol et al. (2012) qui ont quantifié de manière systématique l'impact des chocs sur des biofiltres dupliqués traitant un effluent gazeux complexe représentatif des émissions de plateformes de compostage, en proposant deux indices de résistance et de résilience. Le premier objectif de ce chapitre est d'évaluer, de manière qualitative dans le cadre de notre étude, l'impact de pics de charge transitoire, répétés et d'intensité croissante sur l'efficacité d'élimination des composés soufrés et plus particulièrement en termes de résistance (capacité à maintenir une activité malgré un choc) et de résilience (capacité de récupération suite à un choc) fonctionnelles de ces procédés biologiques. Le second objectif est d'étudier la réponse de la communauté bactérienne à des fluctuations environnementales en se focalisant plus précisément sur les densités de peuplement de la communauté bactérienne totale et de deux populations fonctionnelles d'intérêt.

Au cours de ce chapitre nous nous attacherons également à approcher, en fin d'expérience, l'effet mémoire du couplage lit percolateur/biofiltre en évaluant l'effet d'une série de chocs antérieurs de faible amplitude sur la réponse d'un choc ultime de plus forte amplitude (en termes d'intensité et de durée) et à comparer les résultats avec ceux obtenus pour un biofiltre seul.

Enfin, nous apporterons des premiers éléments de réponse au questionnement industriel relatif aux gains de performance atteints lors de la mise en œuvre du couplage de deux procédés biologiques par rapport à un biofiltre seul en évaluant les potentialités du filtre percolateur dans le cas particulier du traitement d'un gaz réel émis par un équarrissage. La comparaison des performances obtenues par le filtre percolateur installé sur site et l'unité pilote (filtre percolateur) mise en œuvre au laboratoire fera l'objet d'une attention particulière.

4.2. Matériel et méthodes

4.2.1. Stratégie de perturbation

La génération de l'effluent gazeux synthétique est détaillée dans le chapitre 3 (cf § 3.2.2.2.). Les unités pilotes sont décrites dans le §3.2.3.

La stratégie retenue consiste à augmenter les concentrations des polluants, le débit restant inchangé. La composition du gaz et les proportions relatives des composés ne sont pas modifiées. Deux types de perturbations transitoires (stratégie Dirac) sont appliqués. Après avoir maintenu les unités pilotes pour BFA, BFB et FP/BFC à l'état stationnaire (ES1) pendant 15 jours environ, le biofiltre BFB et le couplage lit percolateur/biofiltre BFC ont été soumis à des chocs d'intensité croissante nommés C1, C2, C3 et C4. Chaque choc consiste en une augmentation transitoire de la concentration de chaque composé du mélange pendant une heure sur trois jours consécutifs. La concentration de chaque composé du mélange augmente d'un facteur 7, 9, 12 et 15 pour les chocs C1, C2, C3 et C4 respectivement. Le choc suivant est appliqué lorsque le niveau d'efficacité atteint avant le choc est récupéré. Le biofiltre BFA est utilisé comme contrôle et ne subit pas cette série de chocs.

A l'issue de cette série de perturbations et après avoir atteint un nouvel état stationnaire (ES2), un dernier choc, d'une durée de deux jours et dont le niveau de concentration de chaque composé est supérieur d'un facteur quinze à la valeur nominale, a été appliqué à tous les réacteurs y compris BFA (**figure 38**).

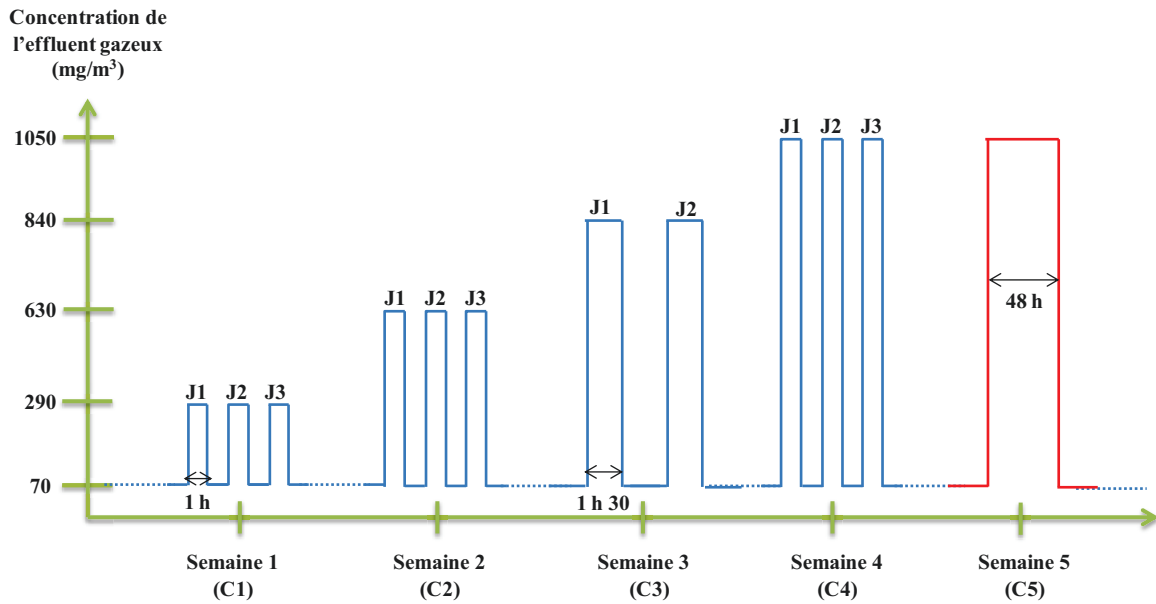


Figure 38 : Stratégie de perturbations. Les analyses de la phase gazeuse sont réalisées après le 3^{ème} jour, [C1 = 109^{ème} jour ; C2 = 116^{ème} jour ; C3 = 121^{ème} jour ; C4 = 129^{ème} jour ; C5 = 142^{ème} jour].

Les caractéristiques des différents chocs sont répertoriées dans le tableau suivant :

Tableau 15 : Caractéristiques des différents chocs administrés aux biofiltres BFA, BFB et au couplage FP/BFC. CSR : Composés Soufrés réduits (DMS et DMDS).

	ES 1	Choc 1	Choc 2	Choc 3	Choc 4	ES 2	Choc 5
Jours	82-102	107-109	114-116	120-121	127-129	132-140	140-142
CSR (mg.m⁻³)	40±3	280±5	360±12	480±10	600±15	40±2	600±14
H₂S (mg.m⁻³)	30±1	210±8	270±11	360±19	450±25	30±2	450±13
Facteur	1	7	9	12	15	1	15

4.2.2. Mise en œuvre d'un filtre percolateur sur site industriel

4.2.2.1. Présentation du site industriel

Une unité pilote composée d'un filtre percolateur a été installé sur un site industriel (équarrissage, ATEMAX sud-est) localisé à Viriat dans le département de l'Ain. Ce centre d'équarrissage est chargé de collecter et de traiter les produits organiques à haut risque provenant des exploitations agricoles (principalement des bovins, des porcins et de la volaille), des usines de traitement des viandes (abattoirs, traitement, boucherie), de l'industrie alimentaire et du secteur public.

4.2.2.2. Dispositif expérimental

- **Composition de l'effluent gazeux malodorant**

L'effluent gazeux à traiter est constitué de l'air des ateliers de traitement de la matière première ainsi que des composés volatils incondensables obtenus après traitement (aéroréfrigérants) des gaz chauds provenant des cuiseurs.

- **Le filtre percolateur**

L'unité pilote (**figure 39**) est constituée d'une cuve de 275 L et d'une colonne en polypropylène garnie par un garnissage structuré : Média 2H TPK 312 (Europe-Environnement SA, Aspasch le Haut, France) sur une hauteur de 3 m. L'unité pilote est raccordée à la gaine canalisant les gaz vers le couplage laveur chimique/biofiltre.



Figure 39 : Implantation du filtre percolateur en amont du couplage de procédés : lavage chimique/ biofiltration.
1 : Entrée filtre percolateur ; **2** : connexion avec la gaine canalisant l'effluent gazeux pollué vers le couplage laveur chimique/biofiltre; **3** : Sortie filtre percolateur ; **4** : Turbine ; **5** : pompe de recirculation de la phase aqueuse.

L'unité pilote est alimentée par le gaz réel de façon ascendante à une vitesse de passage variant entre 500 et 750 m.h⁻¹. Les points de prélèvement gazeux sont situés en entrée du filtre percolateur (0 cm) et en sortie du procédé (3 m).

La phase aqueuse contenue dans la cuve circule en continu en circuit fermé à un débit de 1 m³.h⁻¹ soit une vitesse de passage de 14 m.h⁻¹. Un dévésiculeur est disposé en sortie du filtre percolateur.

Le garnissage estensemencé avec des eaux de lavage des bacs de collecte et des ateliers de l'équarrissage (10 L). Cet inoculum est dilué dans 250 L d'eau de forage.

4.2.3. Méthodes analytiques

Différentes méthodes d'analyse ont été utilisées afin de déterminer la composition de l'effluent gazeux malodorant ainsi que les performances épuratoires des différents bioréacteurs.

4.2.3.1. Analyse de la phase gazeuse

- **Unités pilotes de laboratoire**

La concentration des différents composés du mélange est déterminée par chromatographie en phase gazeuse. L'appareil analytique utilisé ainsi que les conditions opératoires sont précisés dans le chapitre 3 (cf § 3.2.7.).

- **Unité pilote installée sur site**

Des échantillons de gaz sont prélevés dans des sacs en Nalophan®, au moyen d'un dispositif de type « caisson poumon » (Legrand, 2011).

La caractérisation de l'effluent gazeux est effectuée par chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse. Pour chaque prélèvement, l'extraction des composés volatils est réalisée par MicroExtraction sur Phase Solide (SPME) pendant une durée de 20 min *via* une fibre de PDMS/Carboxen (75 µm diamètre interne).

La fibre SPME est ensuite désorbée sur un analyseur GC Varian 3800 (Varian inc., Palo Alto, USA) muni d'un injecteur PTV 1079 et équipé d'une colonne capillaire Varian VF5ms (60 m), de diamètre interne de 0,25 mm et d'épaisseur de phase de 1 µm. Le chromatographe est couplé à un spectromètre de masse quadripolaire Varian 1200. La température de l'injecteur est de 300°C, celle du four et de la colonne chromatographique passe de 40°C à 250°C au moyen d'une rampe de température de 15°C toutes les 4 min.

L'acquisition commence 4 min après le début de la séparation chromatographique selon un mode Impact Electronique (EI) sur une gamme de masses comprises entre 35 et 250 uma avec une vitesse d'acquisition de 0,5 scan.s⁻¹.

La quantification des composés soufrés est réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur de photométrie de flamme (GC/FPD) (ChromaS, Chromatotec, Bordeaux, France). Le ChromaS est équipé de deux colonnes métalliques (30 m * 0,53 mm * 3 µm et 2 m * 0,53 mm * 3 µm). Le volume de la boucle d'injection est de 100 µL.

Le **tableau 16** résume les conditions analytiques du GC-FPD.

Tableau 16 : Conditions analytiques du GC-FPD.

Four, vanne et colonnes chromatographiques	Détecteur
Isotherme 50°C (four et vanne) Débit gaz (air) vecteur : 4 mL.min⁻¹	130°C H₂ (1) : 13 mL.min⁻¹ H₂ (2) : 54 mL.min⁻¹ Air : 80 mL.min⁻¹

4.2.3.2. Analyse de la phase aqueuse

Pour les unités pilote de laboratoire et celle installée sur site industriel, un échantillon des eaux de percolation des biofiltres ou/et de la phase aqueuse du filtre percolateur est prélevé de manière hebdomadaire afin d'évaluer le pH de la solution aqueuse. Les concentrations en ammoniac (Nitrogen total reagent set, HACH Lange, Duesseldorf, Allemagne) et en sulfates (Sulfate reagent SulfaVerR4, HACH Lange, Duesseldorf, Allemagne) sont déterminées à l'aide de kits de mesure HACH selon les recommandations du fournisseur.

4.2.4. Analyses microbiologiques

Ces analyses ont été réalisées à partir d'échantillons de matériaux ou de la phase liquide des unités pilotes de laboratoire.

- **Prélèvements de matériaux**

Des prélèvements de matériaux sont réalisés à l'issue d'une série de chocs de charge c'est-à-dire une fois par semaine, après la dernière perturbation (jour 3) d'une heure (**figure 40**). Des prélèvements de matériaux sont également effectués à l'état stationnaire (ES2) et à l'issue du dernier choc appliqué à tous les bioréacteurs (C5).

Des échantillons de matériaux (≈ 5 g) sont réalisés en bas de colonne (10 cm), à mi-hauteur (50 cm) et à 90 cm de hauteur de colonne au sein des biofiltres BFA, BFB et BFC. Un échantillon de la phase aqueuse (500 ml) du FP est également prélevé à ES2.

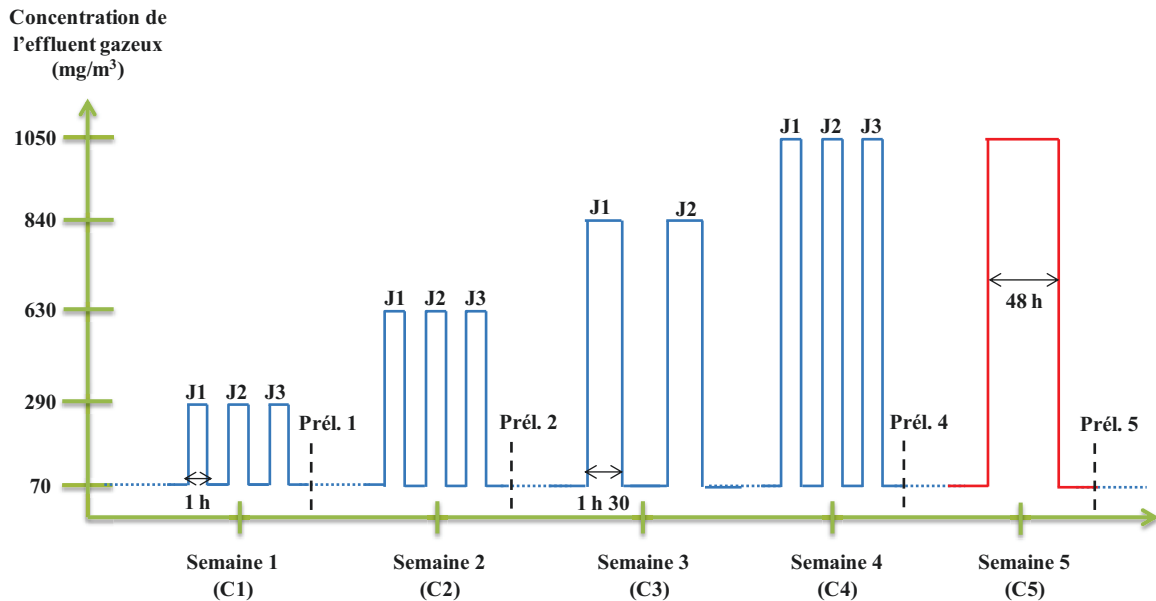


Figure 40 : Stratégie de perturbations. Les prélèvements de matériaux appelés 1, 2 et 4 sont effectués 1h après le dernier choc de la semaine (J3), et les prélèvements de matériaux nommés 5 sont effectués dès l'arrêt de la perturbation C5.

- **Extraction de l'ADN génomique**

Elle est réalisée selon le protocole détaillé dans le chapitre III (cf § 3.2.7.4.).

- **Analyses par qPCR**

Les densités bactériennes et celles correspondant aux populations de *Hyphomicrobium* et *Thiobacillus thioparus* ont été déterminées par qPCR en ciblant le gène de l'ADNr16S selon le protocole détaillé dans le chapitre précédent (cf § 3.2.7.6.).

4.3. Résultats et discussion

Les bioréacteurs ont réellement subi deux types de perturbations.

Avant l'atteinte de l'état stationnaire, un problème technique (arrêt du compresseur du laboratoire pendant 5 jours) a induit une perturbation du fonctionnement des bioréacteurs sous la forme d'un jeûne de $t = 60$ à $t = 65$ jours, c'est-à-dire avant l'atteinte de l'état stationnaire (à partir de $t = 85$ j).

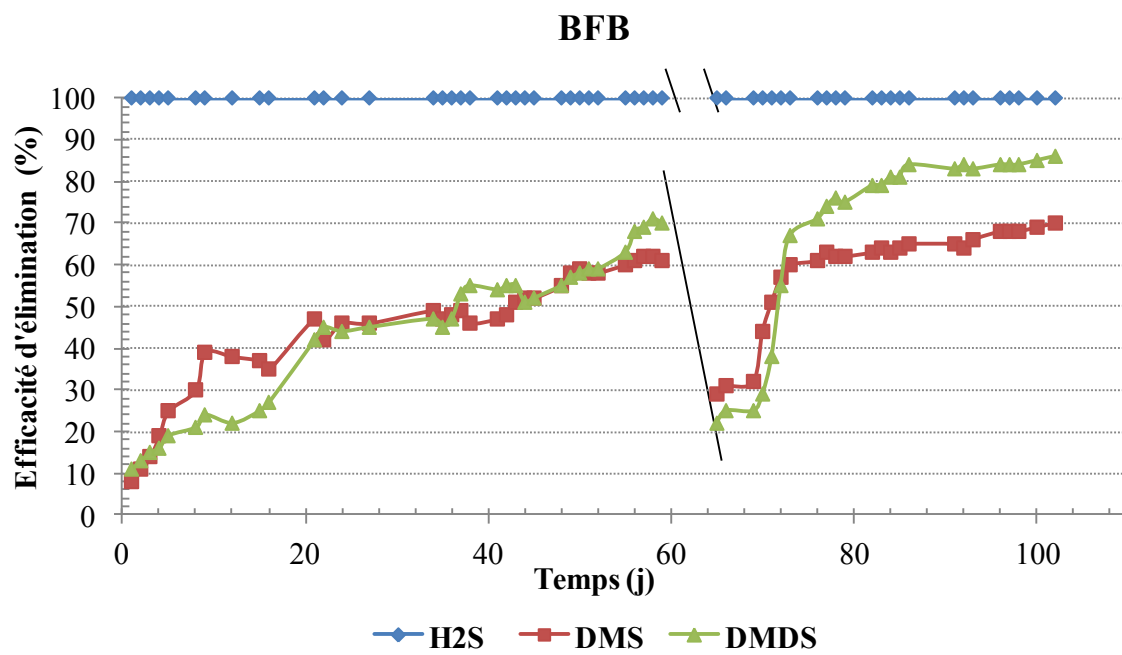
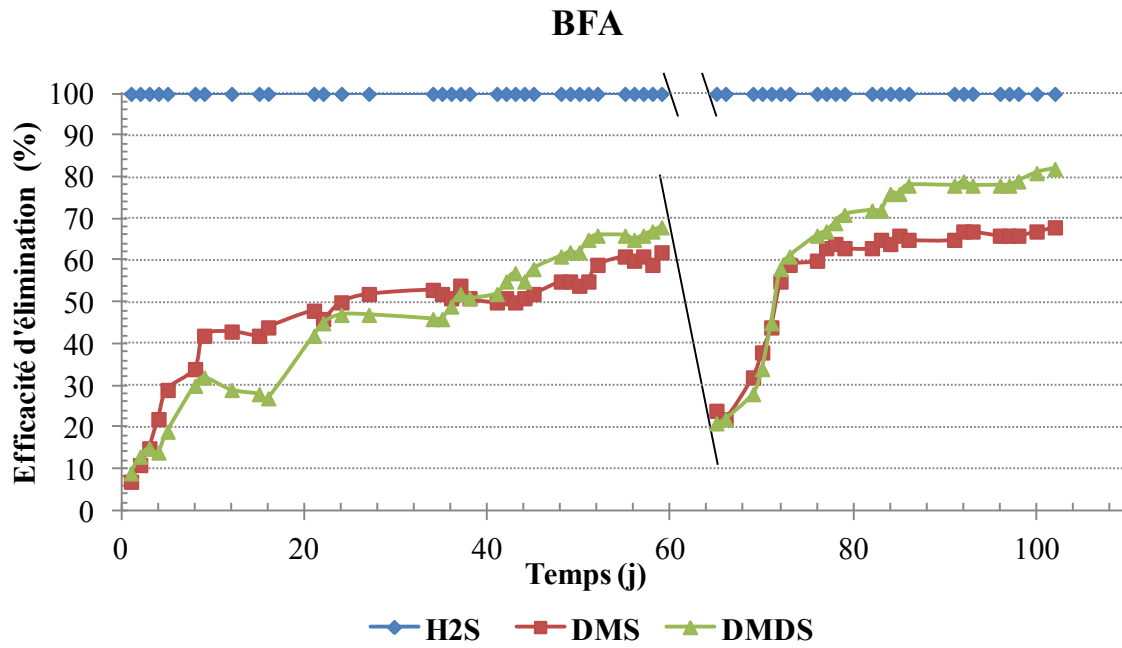
Après atteinte de l'état stationnaire, quatre chocs de concentrations d'une durée de 1h sur trois jours consécutifs et d'intensité croissante (7, 9, 12, et 15 fois la concentration initiale) par semaine ont été appliqués au biofiltre BFB et au couplage FP/BFC. BFA est utilisé comme biofiltre de référence et a été alimenté en conditions stationnaires (Chapitre 3). Cette phase de l'étude permettra d'apporter des éléments de réponse au questionnement concernant la robustesse du système filtre percolateur/biofiltre. L'analyse de la phase gazeuse et les prélèvements de matériau ont été réalisés consécutivement à l'arrêt de chaque perturbation (3^{ème} jour) afin d'évaluer l'impact de celle-ci sur l'efficacité d'élimination des composés et les densités de la communauté bactérienne totale et de deux fractions de cette communauté représentées par les populations d'*Hyphomicrobium* et de *Thiobacillus thioparus*.

Pour approcher l'effet mémoire du couplage en réponse à ses chocs de concentration, une dernière perturbation est appliquée sur une durée de 48 heures et sur la totalité des réacteurs.

Il convient de rappeler que cette approche expérimentale développée dans ce quatrième et dernier chapitre se base sur les travaux réalisés par Cabrol et al. (2012) qui ont défini d'un point de vue fonctionnel, deux indices de résistance (capacité à maintenir une activité malgré une perturbation) et de résilience (capacité à récupérer une activité stable après une perturbation) pour quantifier de façon systématique l'impact des chocs.

4.3.1. Impact d'un jeûne sur les performances des différents bioprocédés (BFA, BFB et couplage FP/BFC).

Les bioréacteurs ont subi un jeûne de 5 jours suite à un dysfonctionnement du système de génération de l'effluent gazeux synthétique (arrêt du compresseur). La **figure 41** présente l'évolution de l'efficacité d'élimination des polluants pendant cette période pour BFA, BFB et le couplage FP/BFC.



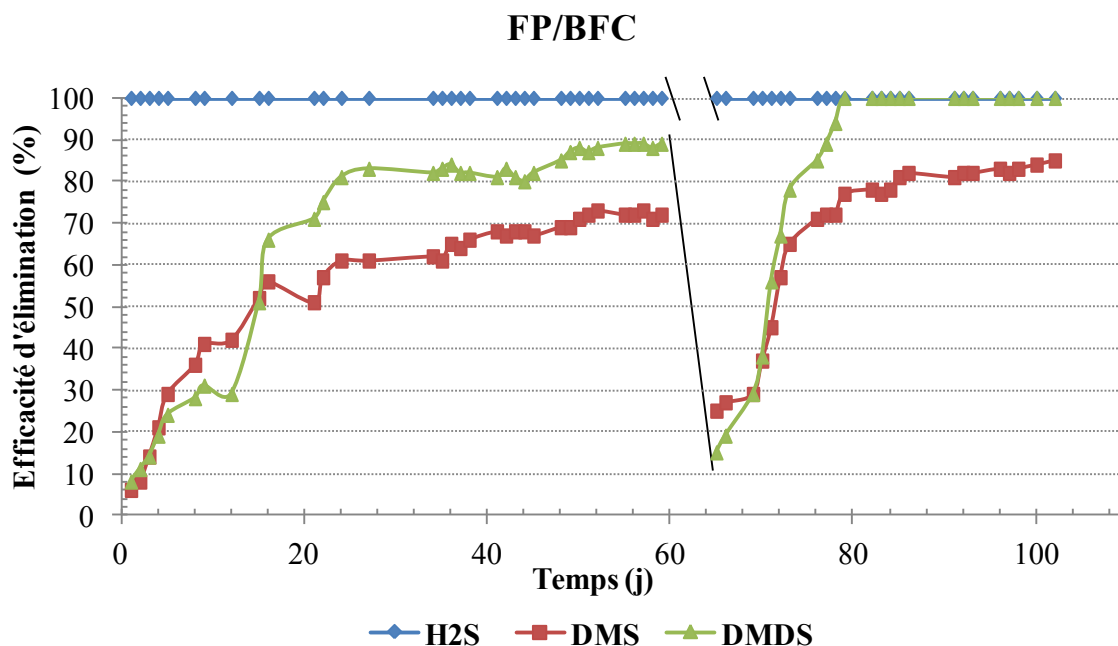


Figure 41 : Impact d'un jeûne sur les performances des différentes unités pilotes (biofiltres et couplage lit percolateur/biofiltre). \ : les unités pilotes n'ont pas été alimentées de $t = 59$ à $t = 65$ jour.

L' H_2S est totalement éliminé sur les deux biofiltres ainsi que sur le filtre percolateur en sortie de colonne dès le retour à une alimentation nominale. Il semblerait que ce jeûne n'ait pas eu d'influence sur l'activité des communautés bactériennes impliquées dans la dégradation de ce composé. La capacité de cette communauté à s'adapter à des conditions extrêmes, que celle-ci colonise un biofiltre ou un filtre percolateur, peut être suggérée. Il est probable que cette communauté utilise un sous-produit disponible de la dégradation de l' H_2S (soufre élémentaire) lui permettant de maintenir son activité de dégradation.

L'évolution de l'efficacité d'élimination du DMS et du DMDS sur BFA et BFB est similaire. Le taux d'abattement du DMS et du DMDS décroît de $66 \pm 2\%$ à $26 \pm 3\%$ et $70 \pm 1\%$ à $21 \pm 3\%$ respectivement. Le comportement du biofiltre BFC est similaire à celui observé pour BFA et BFB. Le taux d'abattement du DMS et du DMDS diminue de $67 \pm 1\%$ à $21 \pm 3\%$ et de $89 \pm 3\%$ à $15\% \pm 2\%$ respectivement. Les niveaux d'abattement mesurés avant l'arrêt de l'alimentation en polluants sont atteints après une période d'environ 12 jours.

Ces résultats semblent révéler que, contrairement à la communauté dégradant l' H_2S , les communautés bactériennes impliquées dans la dégradation du DMS et du DMDS sont sensibles à une absence d'alimentation en polluants, une phase de réadaptation étant nécessaire avant d'atteindre des performances équivalentes à celles observées avant la période

de jeûne. Comme attendu, les systèmes mis en œuvre sont plus robustes pour le composé facilement dégradable (H_2S) que pour les composés plus récalcitrants (DMS et DMDS).

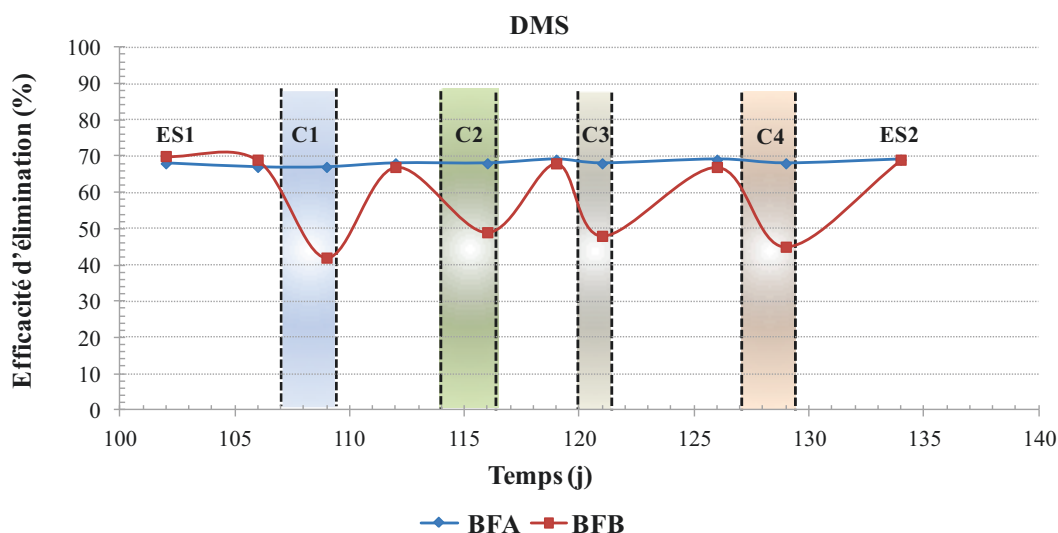
4.3.2. Evaluation de la robustesse du biofiltre BFB face à des perturbations transitoires de courte durée

Après avoir maintenu les unités pilotes BFA et BFB à l'état stationnaire pendant une dizaine de jours (cf **M&M** § 4.2.1.), quatre chocs successifs ont été appliqués au biofiltre BFB selon le protocole décrit dans le paragraphe 4.2.1. Le biofiltre BFA est utilisé comme contrôle. Il convient de préciser que les analyses de la phase gazeuse ont été effectuées dès la fin de la perturbation (troisième jour) et après avoir atteint un nouvel état stationnaire.

4.3.2.1. Performances

L'hydrogène sulfuré est totalement éliminé en sortie de la colonne BFB à l'issue de chaque choc.

Les résultats d'efficacité d'élimination des DMS et DMDS sont présentés sur la **figure 42**.



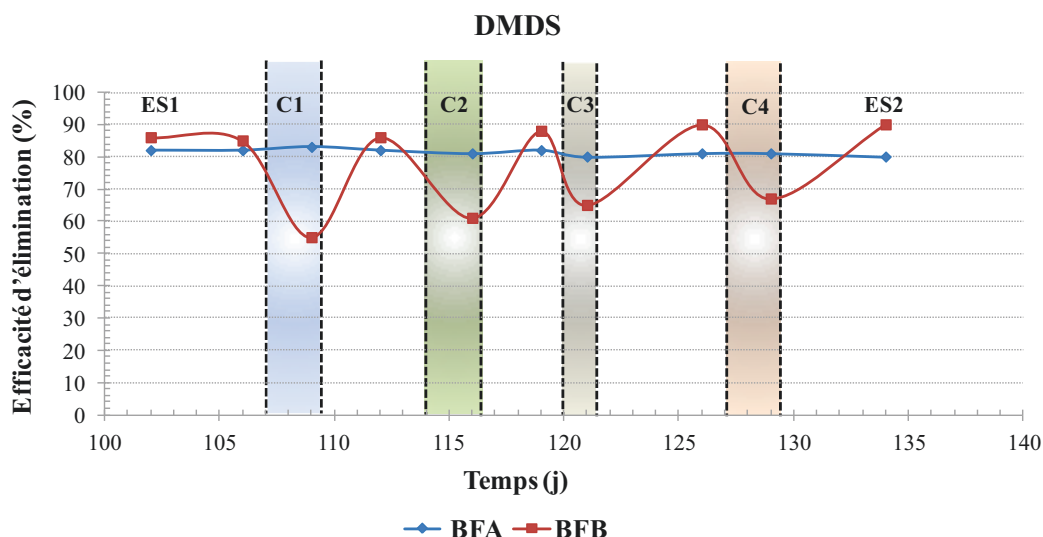


Figure 42 : Evolution de l'efficacité d'élimination des DMS et DMDS au cours du temps pour BFB et BFA (biofiltre contrôle). C1 = 109^{ème} jour ; C2 = 116^{ème} jour ; C3 = 121^{ème} jour ; C4 = 129^{ème} jour.

A l'issue de chaque perturbation transitoire, une diminution de l'efficacité d'élimination est observée, elle est de l'ordre de 20 à 30% pour le DMS, quel que soit le choc appliqué. Pour le DMDS, si la diminution de l'efficacité d'élimination est du même ordre de grandeur que pour le DMS, l'écart au niveau d'abattement observé avant le choc semble se réduire avec la succession de perturbations. Le temps nécessaire pour récupérer le niveau d'abattement de ces deux composés ($70\% \pm 2\%$ et $84\% \pm 3\%$ pour le DMS et DMDS respectivement) est court (inférieur ou égal à 72 heures), quelle que soit la perturbation appliquée.

Comme cela a été observé dans la littérature, les pics de charge se traduisent par une diminution temporaire de la résultante fonctionnelle de dégradation (Kim et al., 2008 ; Rene et al., 2009 ; Cabrol et al., 2012). De plus, dans le cadre de notre étude, si l'application de perturbations transitoires répétées sur une durée courte (1 heure) perturbe le fonctionnement du système en induisant une diminution des performances, le temps nécessaire pour récupérer les niveaux d'abattement d'avant les chocs est court (inférieur ou égal à 72 heures pour les composés soufrés organiques) voire inexistant pour l' H_2S .

4.3.2.2. Profils de concentration

- Cas de l' H_2S

Le profil de concentration de l' H_2S en fonction de la hauteur de colonne pour BFB est représenté par la **figure 43**.

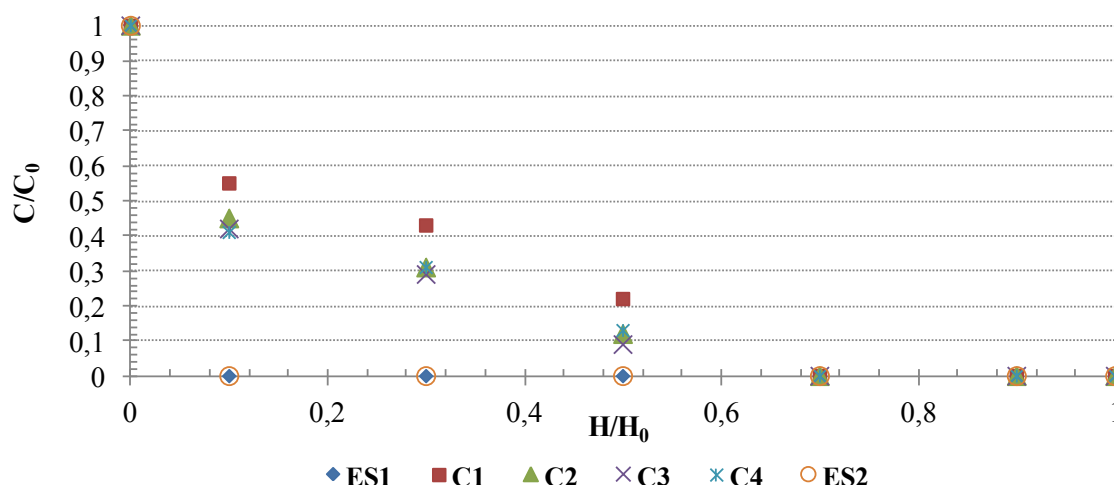


Figure 43 : Profils longitudinaux d'élimination de l' H_2S . Le rapport de la concentration C sur la concentration d'entrée C_0 à la hauteur H de colonne est tracé en fonction de la hauteur adimensionnelle H/H_0 . ES1 = 102^{ème} j ; C1 = 109^{ème} jour ; C2 = 116^{ème} jour ; C3 = 121^{ème} jour ; C4 = 129^{ème} jour ; ES2 = 134^{ème} j.

L'analyse de cette figure met en évidence l'impact des chocs sur la hauteur de colonne nécessaire à l'élimination de l' H_2S . La hauteur permettant la dégradation complète de l' H_2S est estimée à 70 cm, quel que soit le choc. Une fois les quatre séries de chocs de concentration terminées, le retour du profil de concentration de l' H_2S en fonction de la hauteur de colonne observé à ES1, s'effectue sur une période dont la durée est inférieure ou égale à 3 jours après l'arrêt du choc.

- Cas du DMS et du DMDS

Les profils de concentrations du DMS et du DMDS en fonction de la hauteur de colonne sont présentés sur la **figure 44**. Les profils nommés C1, C2, C3 et C4 sont déterminés à l'issue de chaque choc.

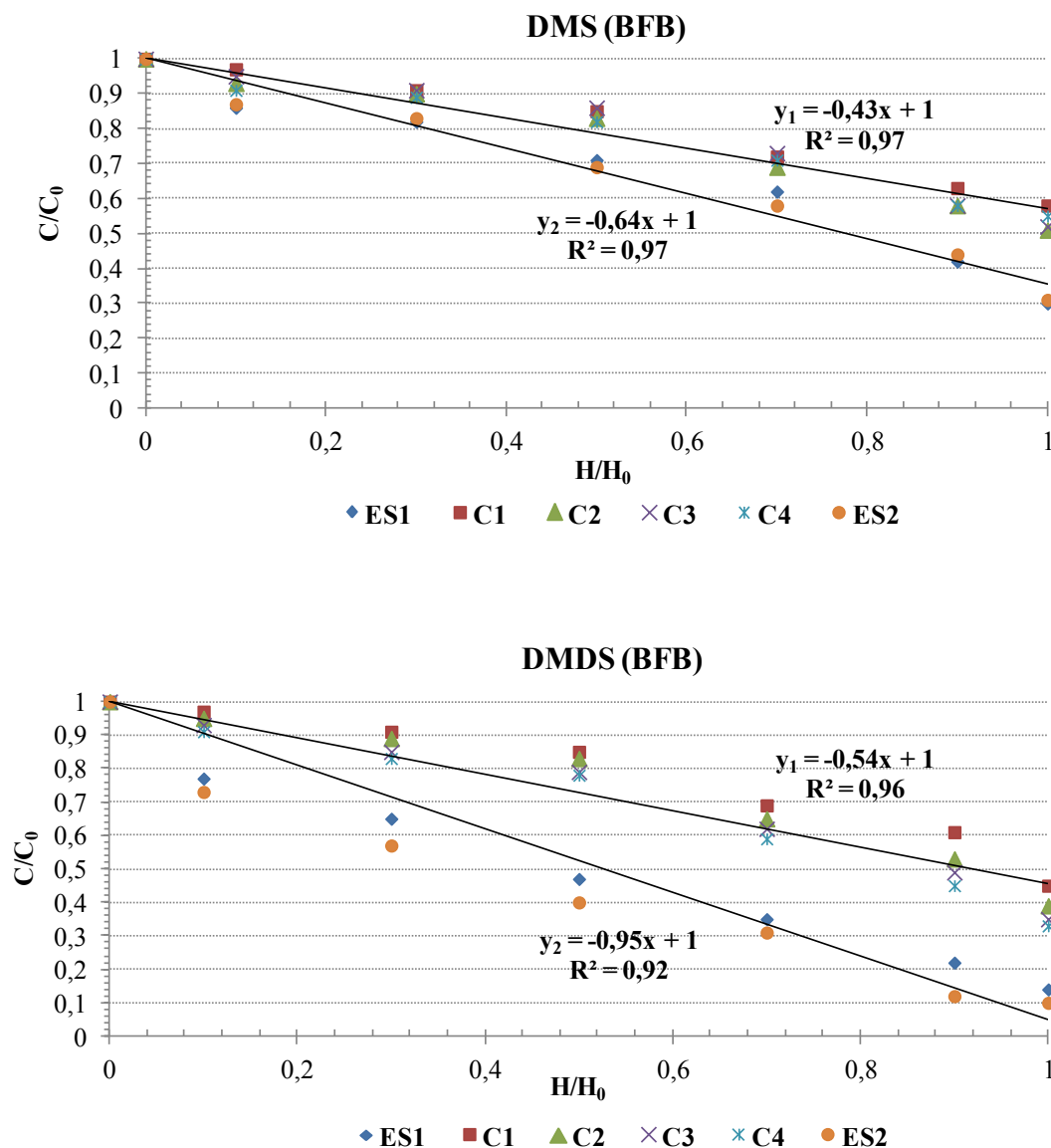


Figure 44 : Profils longitudinaux d'élimination du DMS et du DMDS respectivement. Le rapport de la concentration C sur la concentration d'entrée C_0 à la hauteur H de colonne est tracé en fonction de la hauteur adimensionnelle H/H_0 . ES1 = 102^{ème} jour ; C1 = 109^{ème} jour ; C2 = 116^{ème} jour ; C3 = 121^{ème} jour ; C4 = 129^{ème} jour ; ES2 = 134^{ème} jour ; y_1 correspond à la droite moyenne de régression linéaire des profils C1, 2, 3 et 4 ; y_2 correspond à la droite moyenne de régression linéaire des profils ES1 et ES2.

Comme l'indique la figure, à l'issue de chaque choc, la cinétique de dégradation de ces deux composés est plus lente : pentes de -0,43 au lieu de -0,64 pour le DMS et de -0,54 au lieu de -0,95 pour le DMDS à l'état stationnaire. Les profils de concentration sont linéaires pour les deux composés traduisant une dégradation homogène de ce polluant sur toute la hauteur de colonne garnie.

La **figure 45** présente les profils longitudinaux d'élimination du DMS et du DMDS respectivement entre chaque choc de concentration (72h après l'application de la perturbation) en fonction de la hauteur de colonne.

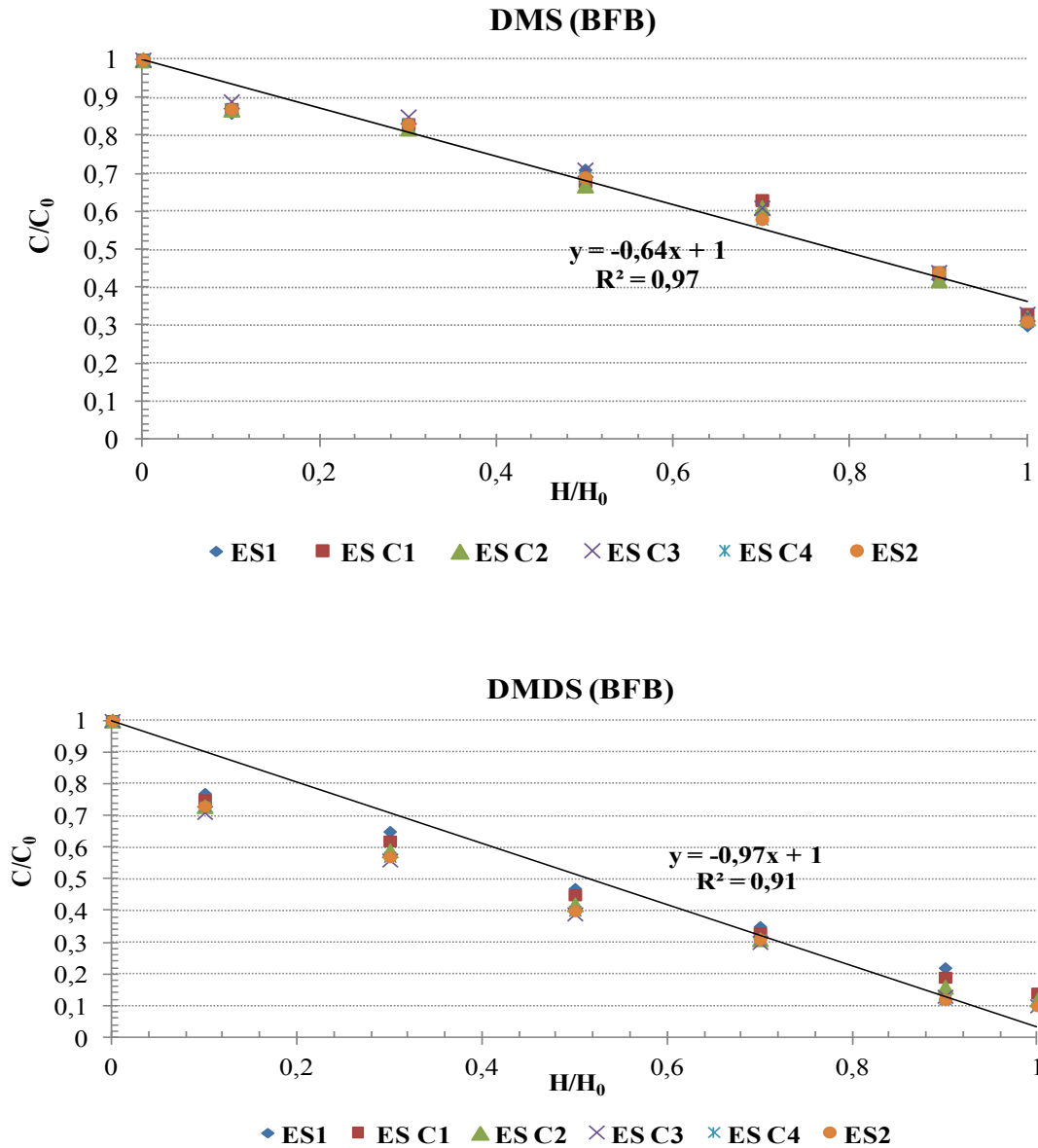


Figure 45 : Profils longitudinaux d'élimination du DMS et du DMDS respectivement. Le rapport de la concentration C sur la concentration d'entrée C_0 à la hauteur H de colonne est tracé en fonction de la hauteur adimensionnelle H/H_0 . ES1 = 102^{ème} jour ; ES C1 = 112^{ème} jour ; ES C2 = 119^{ème} jour ; ES C3 = 126^{ème} jour ; ES C4 = 132^{ème} jour ; ES2 = 134^{ème} jour.

Comme le montre la **figure 45**, le profil de concentration du DMS et du DMDS à l'état stationnaire précédant chaque choc est similaire à celui observé à l'état stationnaire précédant l'application de la première perturbation (ES1).

Ces résultats n'ont pas permis de déterminer des mesures quantitatives d'impact comme les niveaux de résistance et de résilience fonctionnelles du biofiltre BFB en utilisant un indice adapté (Orwin et Wardle, 2004 ; Cabrol et al., 2012). En écologie, la résistance fonctionnelle représente la capacité à maintenir une activité malgré une perturbation et la résilience fonctionnelle étant la vitesse à laquelle un système retourne à son état initial après avoir été perturbé (Cabrol and Malhautier, 2011b). Des mesures de concentration des différents composés plus rapprochées auraient probablement permis de quantifier ces niveaux de résistance et de résilience de ce biofiltre. Néanmoins, ces résultats révèlent, d'un point de vue qualitatif, la capacité élevée de résilience de ce biofiltre, puisqu'il est capable de récupérer, de façon stable, les niveaux de performance observés avant l'application des différents chocs. L'évaluation quantitative des capacités de résistance et de résilience fonctionnelles de deux biofiltres alimentés par un effluent gazeux complexe et soumis à des perturbations transitoires a également révélé la forte résilience des biofiltres puisqu'aucune perturbation n'a engendré de dysfonctionnement irréversible (Cabrol et al., 2012).

Ce résultat est en adéquation avec l'ordre de biodégradation des composés soufrés, l' H_2S étant plus facilement biodégradable que les composés soufrés organiques. Cette diminution des performances est probablement due à la combinaison de deux phénomènes physico-chimique et biologique. Il a été montré que les pics de charge se traduisent généralement par une perte d'activité temporaire des microorganismes impliqués. La perte de résistance et la durée de récupération augmentent globalement avec l'intensité et la durée du choc (Kim et al., 2008 ; Rene et al., 2009 ; Cabrol et al., (2012) et dépendent aussi de la nature des composés (Cai et al., 2007 ; Mathur et Majumber, 2008). Les travaux de Cabrol et al. (2012) ont effectivement montré que le système était plus résistant pour les composés facilement biodégradables (esters, aldéhyde) et peu résistant pour les composés plus récalcitrants (DMDS, cétones, ammoniac). Comme attendu, dans le cadre de notre étude, les capacités de résistance et de résilience de BFB sont supérieures pour l'hydrogène sulfuré à celle du DMS et DMDS qui elles, sont similaires. Cette diminution des performances concernant les composés peu solubles (DMS et DMDS) peut également s'expliquer par une limitation due au transfert de masse.

Afin d'étudier l'impact de ces chocs sur la communauté microbienne implantée au sein du biofiltre BFB, les densités de la communauté bactérienne totale et des populations d'*Hyphomicrobium* et de *Thiobacillus thioparus* ont été déterminées en bas de colonne (proche de l'entrée des gaz), à mi-hauteur et en haut de colonne.

4.3.2.3. Impact des chocs de concentration sur la densité de peuplement de la communauté bactérienne totale et des populations *Hyphomicrobium* et *Thiobacillus thioparus*

La distribution des densités de bactéries totales ainsi que des populations d'*Hyphomicrobium* et de *Thiobacillus thioparus* ont été estimées à partir de prélèvements de garnissage effectués au sein des biofiltres BFA et BFB (à 10, 50 et 90 cm de hauteur de colonne) pendant les périodes d'état stationnaire précédant et suivant les chocs (ES1 et ES2) ainsi qu'à l'issue de chaque choc C1, C2 et C4.

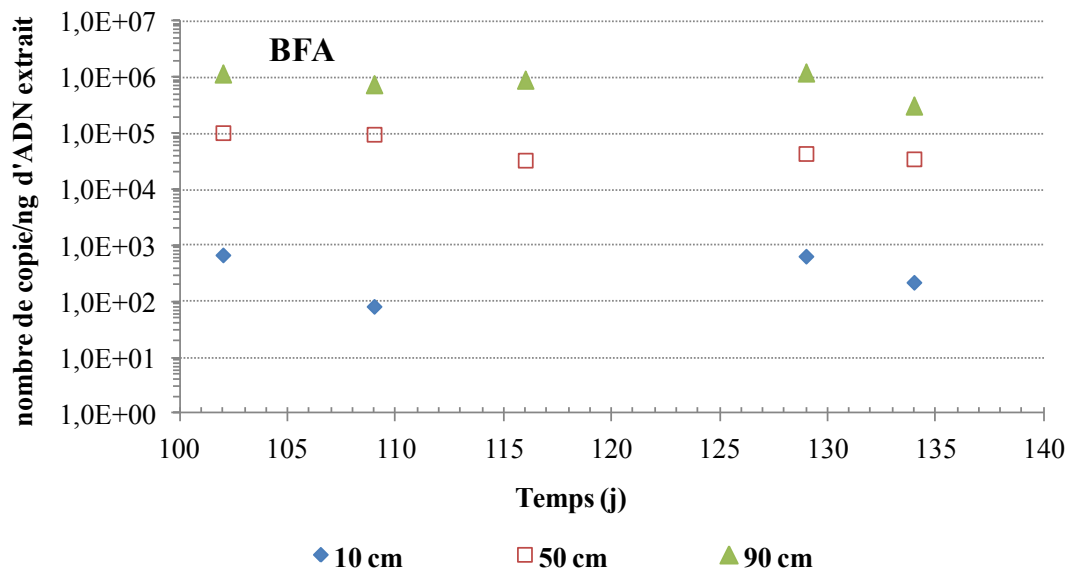
Concernant la communauté bactérienne totale, les résultats sont donnés dans le tableau ci-dessous (**tableau 17**).

Tableau 17 : Nombre moyen de copies du gène ADNr-16S (région V3) par ng d'ADN extrait, quantifié par qPCR au cours du temps ($t = 102$ j (**ES1**) ; $t = 109$ j (**C1**) ; $t = 116$ j (**C2**) ; $t = 129$ j (**C4**) ; $t = 134$ j (**ES2**)) dans les biofiltres contrôle (BFA) et perturbé (BFB), à 10 cm, 50 cm et 90 cm de l'entrée des gaz. ND : non déterminé.

Biofiltre	Prélèvement	H = 10 cm	H = 50 cm	H = 90 cm
BFA (biofiltre contrôle)	ES1	2,1E+05	9,4E+05	1,4E+06
	C1	2,4E+06	2,0E+06	1,8E+06
	C2	3,8E+05	9,3E+05	3,4E+05
	C4	3,1E+06	6,1E+06	3,8E+06
	ES2	5,3E+06	4,5E+06	4,0E+06
BFB (biofiltre perturbé)	ES1	4,0E+06	3,6E+06	3,4E+06
	C1	ND	1,6E+06	1,7E+06
	C2	2,1E+06	4,5E+06	4,8E+05
	C4	1,2E+06	4,8E+06	5,3E+06
	ES2	4,2E+06	5,5E+06	1,3E+06

La comparaison des résultats met en évidence des niveaux de densités équivalents entre les deux bioréacteurs, quelle que soit la hauteur de colonne, pendant toute la durée de l'expérience. L'application de perturbations transitoires répétées ne semble donc pas avoir d'impact sur la communauté bactérienne totale en termes de densité. Cependant, il a été rapporté que l'abondance des différentes fractions de la communauté peut réagir différemment à la perturbation, certaines étant avantagées au détriment d'autres (Fernandez et al., 2000 ; Lozada et al., 2007 ; Cabrol and Malhautier, 2011b). Il est donc intéressant de visualiser l'impact des perturbations sur les populations spécifiques ciblées dans le cadre de cette étude : *Hyphomicrobium* et *Thiobacillus thioparus*.

La **figure 46** présente l'évolution de la densité de la population *Hyphomicrobium* en fonction du temps pour le biofiltre contrôle (BFA) et le biofiltre perturbé (BFB) à 10, 50 et 90 cm de hauteur par rapport à l'entrée des gaz.



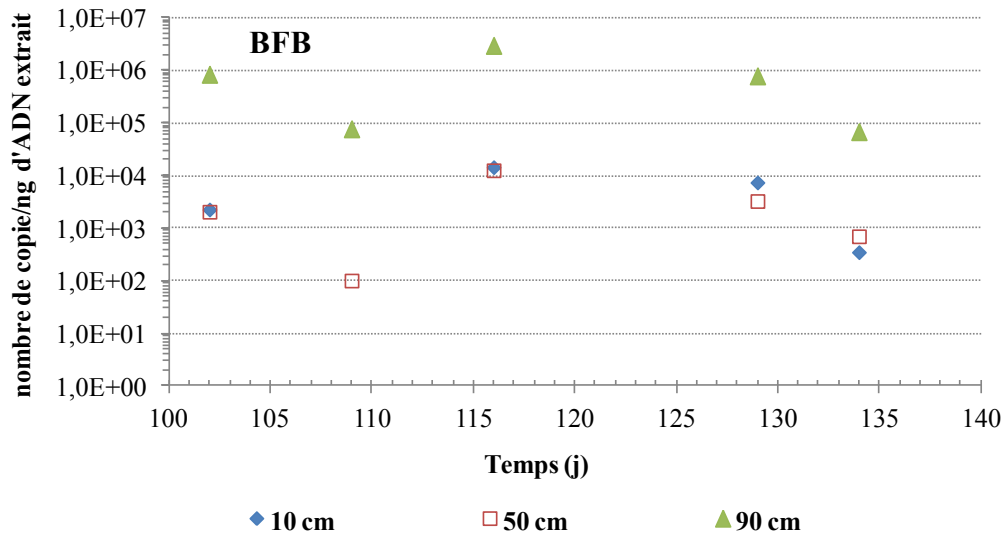


Figure 46 : Evolution du nombre de copies de l'ADNr-16S permettant de dénombrier la population *Hyphomicrobium* en fonction du temps (t= 102 j (ES1) ; t= 109 j (C1) ; t= 116 j (C2) ; t= 129 j (C4) ; t= 134 j (ES2)) dans les biofiltres contrôle (BFA) et perturbé (BFB), à 10 cm, 50 cm et 90 cm de l'entrée des gaz.

L'analyse qPCR de l'échantillon prélevé à 10 cm de l'entrée des gaz à t = 109 jour pour BFA n'a pas été exploitable.

Pour le biofiltre contrôle (BFA), les niveaux de densité de la population *Hyphomicrobium* sont constants dans la section de colonne proche de l'entrée des gaz (10 cm), à mi-hauteur et à 90 cm de hauteur de colonne. Pour BFB, il convient de noter que les densités de peuplement obtenues à l'état stationnaire précédant les chocs sont inférieures à celles mesurées pour BFA à mi-hauteur de colonne (10^3 copies pour BFB et 10^5 copies pour BFA). L'application de la première perturbation semble induire une diminution des densités de peuplement sur toute la hauteur de colonne (*Hyphomicrobium* n'est pas détecté à 10 cm de l'entrée des gaz) alors que les autres perturbations, et plus particulièrement C2 et C4, ne semblent pas engendrer d'effet de densité. Les niveaux de densité observés tendent effectivement à être similaires à ceux observés à l'état stationnaire précédant et suivant les chocs (ES1 et ES2). Il est probable que la pression de sélection exercée par la première perturbation induise une perte temporaire de densité de cette population. Les résultats observés à l'issue des chocs suivants suggèrent un effet d'adaptation de cette population sur le plan physiologique (augmentation du taux de croissance et d'activité enzymatique, augmentation du taux de transcription et d'expression des gènes).

Les valeurs de densité de peuplement de la population *Thiobacillus thioparus* sont présentées sur la figure ci-dessous (**figure 47**).

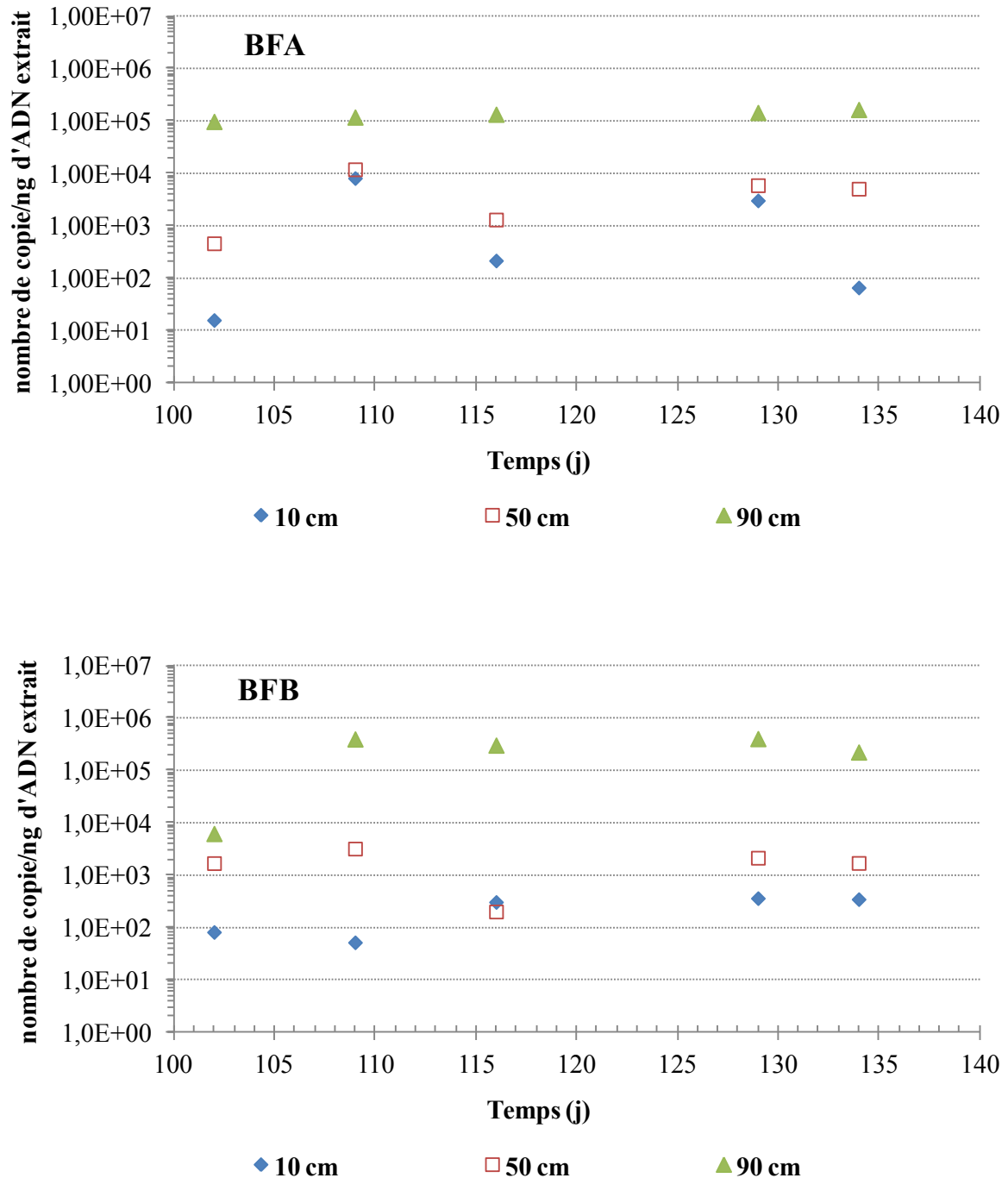


Figure 47 : Evolution du nombre de copies de l'ADNr-16S permettant de dénombrer la population *Thiobacillus thioparus* en fonction du temps ($t = 102$ j (ES1) ; $t = 109$ j (C1) ; $t = 116$ j (C2) ; $t = 129$ j (C4) ; $t = 134$ j (ES2)) dans les biofiltres contrôle (BFA) et perturbé (BFB), à 10 cm, 50 cm et 90 cm de l'entrée des gaz.

Concernant la population de *Thiobacillus thioparus*, les résultats de densité obtenus semblent relativement homogènes pour BFA et BFB, quelle que soit la hauteur de colonne. Pour BFA, des variations de densité sont observées à 10 cm de hauteur de colonne et à mi-hauteur. Ces variations peuvent être induites par le prélèvement de matériau et l'extraction (influence de l'opérateur). Il convient également de préciser que ces résultats sont probablement influencés par la fréquence des analyses. Les données obtenues semblent révéler que les perturbations n'ont pas d'impact sur les niveaux de densité de cette population sur toute la hauteur de colonne.

4.3.3. Evaluation de la robustesse du couplage filtre percolateur/biofiltre (FP/BFC)

Comme mentionné dans le paragraphe 4.3.2., quatre chocs successifs ont été appliqués au biofiltre BFC selon le protocole décrit dans le paragraphe 4.2.1. Il convient de préciser que, pour le filtre percolateur, les analyses de la phase gazeuse ont été effectuées en entrée et en sortie seulement.

4.3.3.1. Performances

Il convient de noter que l'hydrogène sulfuré est totalement éliminé en sortie du filtre percolateur, quel que le soit le choc appliqué. Les perturbations transitoires n'ont donc pas d'impact sur l'élimination de l' H_2S , ce composé étant totalement éliminé pendant les chocs.

Les résultats d'efficacité d'élimination des DMS et DMDS en fonction du temps au sein de BFB et du couplage FP/BFC sont présentés sur la **figure 48**. Il convient de souligner que ces deux composés ne sont pas éliminés par le FP mais seulement au sein de BFC.

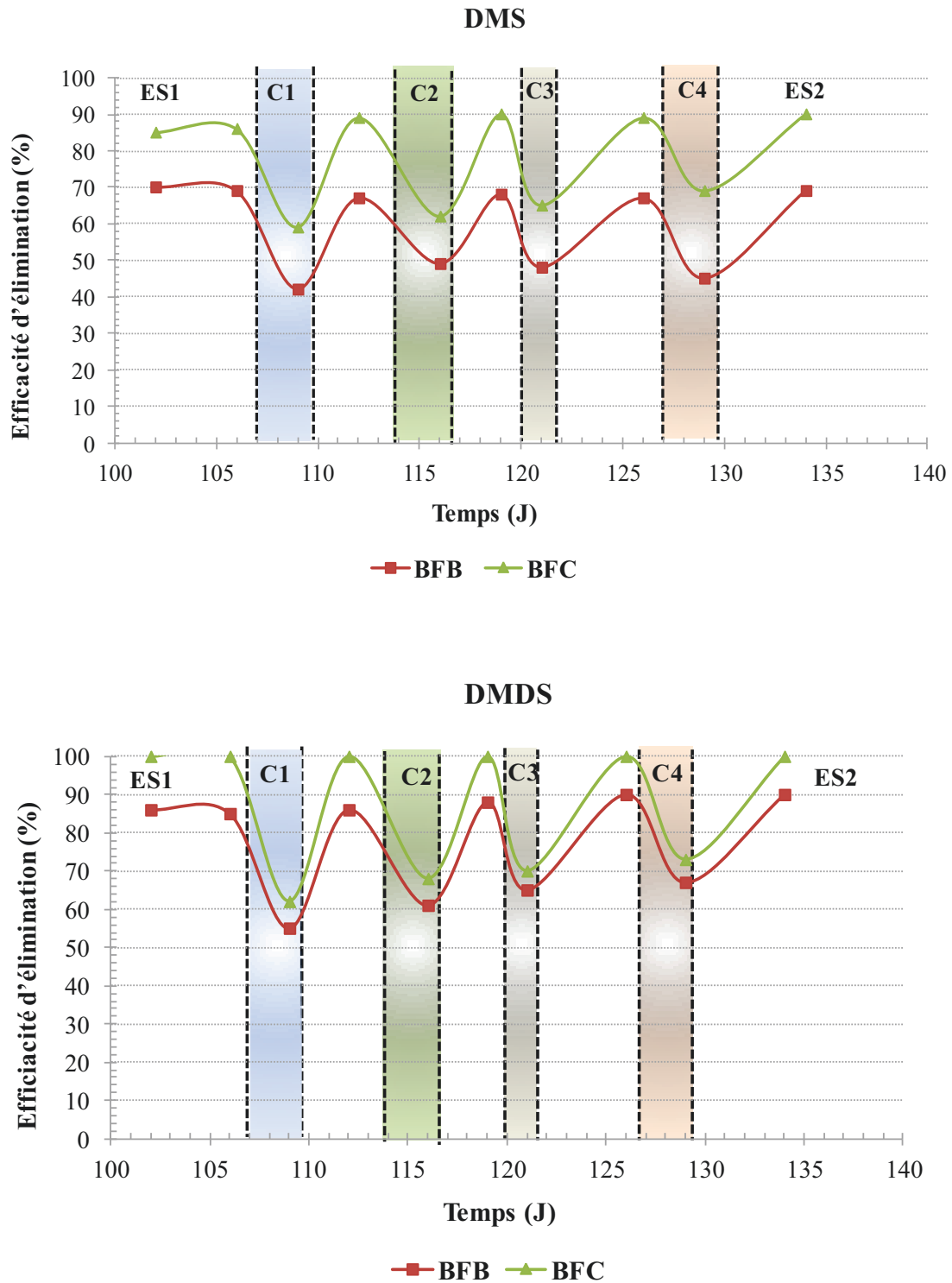


Figure 48 : Evolution de l'efficacité d'élimination des DMS et DMDS au cours du temps au sein de BFB et du couplage FP/BFC. C1 = 109^{ème} jour ; C2 = 116^{ème} jour ; C3 = 121^{ème} jour ; C4 = 129^{ème} jour. FP = filtre percolateur ; BF = biofiltre.

L'évolution de l'efficacité d'élimination du DMS en fonction du temps est similaire pour BFB et BFC. La perte d'efficacité d'élimination du DMS observée à l'issue de chaque perturbation est similaire, de l'ordre de 25 à 30%. Le niveau d'abattement mesuré avant l'application de la perturbation transitoire est récupéré dans un délai inférieur ou égal à 72 heures. Concernant le DMDS, le comportement de BFC est également similaire à celui observé pour BFB. Néanmoins, pour BFC, la perte d'efficacité subie (de l'ordre de 30 à 40%) semble plus importante que pour BFB (environ 25-30%). Comme visualisé pour BFB, ces résultats semblent montrer que la perte d'efficacité diminue avec l'application successive des perturbations (40% pour C1, 30-35% pour C2 et C3 et 20-25% pour C4). Cette évolution traduirait un phénomène d'adaptation des communautés aux chocs successifs.

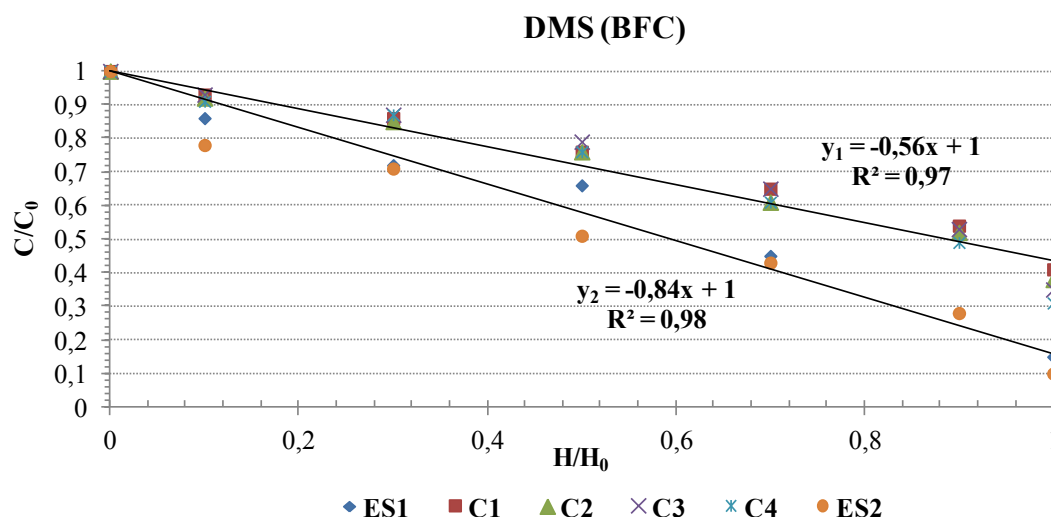
4.3.3.2. Profils de concentration

- Cas de l'hydrogène sulfuré

Comme mentionné précédemment, l' H_2S est complètement éliminé au niveau du filtre percolateur.

- Cas du DMS et du DMDS

La **figure 49** présente les profils de concentrations du DMS et du DMDS en fonction de la hauteur de colonne.



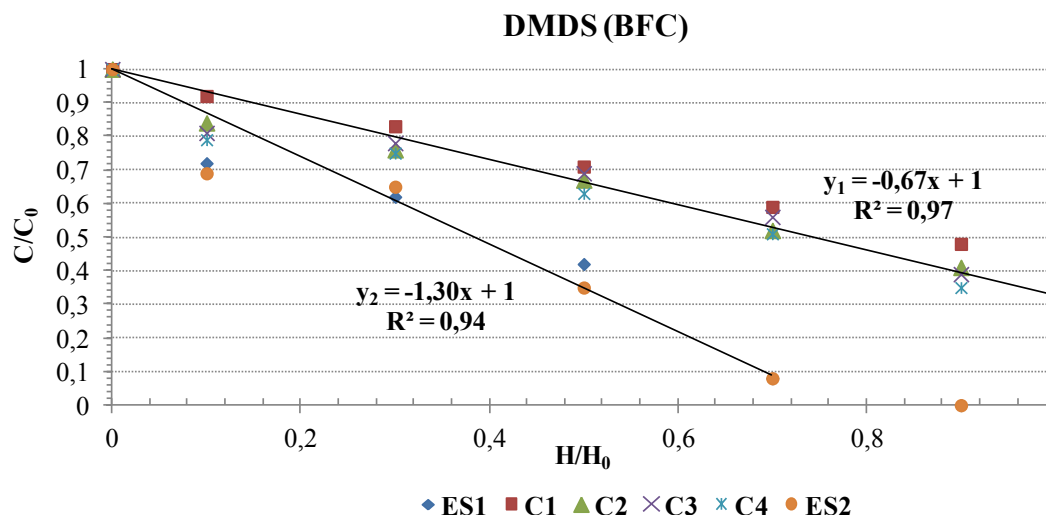


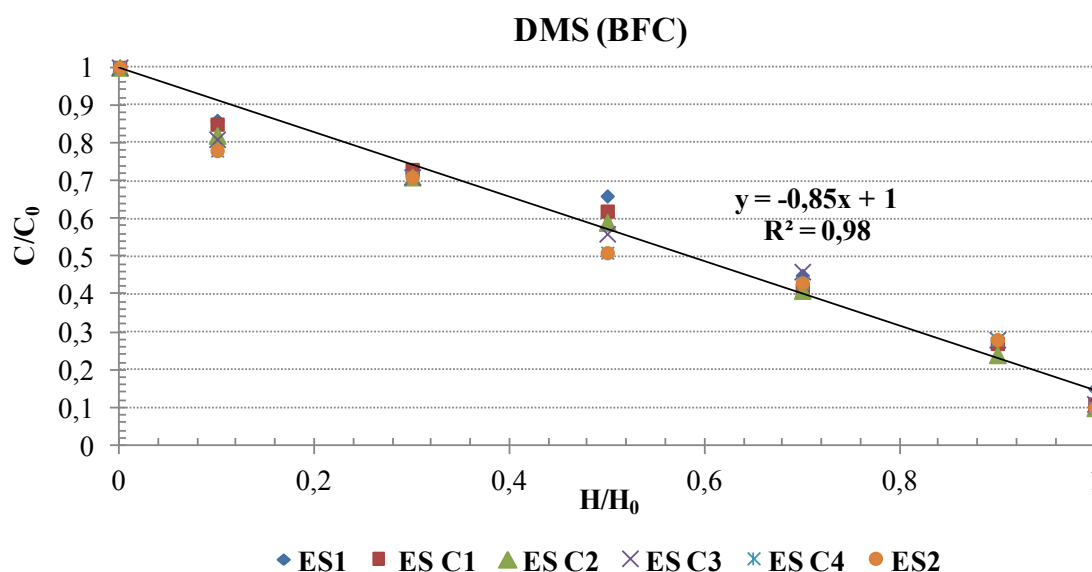
Figure 49 : Profils longitudinaux d'élimination du DMS et du DMDS respectivement. Le rapport de la concentration C sur la concentration d'entrée C_0 à la hauteur H de colonne est tracé en fonction de la hauteur adimensionnelle H/H_0 . ES1 = 102^{ème} jour ; C1 = 109^{ème} jour ; C2 = 116^{ème} jour ; C3 = 121^{ème} jour ; C4 = 129^{ème} jour ; ES2 = 134^{ème} jour ; y_1 correspond à la droite moyenne de régression linéaire des profils C1, 2, 3 et 4 ; y_2 correspond à la droite moyenne de régression linéaire des profils ES1 et ES2.

L'analyse de ces résultats suggère que les chocs répétés n'ont pas d'impact sur l'allure du profil de concentration des deux composés soufrés organiques. Néanmoins, comme l'indique la figure 47 et comme pour BFB, à l'issue de chaque choc, la cinétique de dégradation de ces deux composés est plus lente : pentes de -0,6 au lieu de -0,8 pour le DMS et de -0,7 au lieu de -1,3 pour le DMDS à l'état stationnaire. La comparaison de ces résultats avec ceux obtenus pour BFB (**figure 44**) révèle que l'impact des perturbations est similaire pour BFC et BFB. Comme pour BFB, dans un délai inférieur ou égal à 72 heures, le profil de concentrations observé à l'état stationnaire avant l'application de la première perturbation est récupéré entre chaque choc transitoire, quel que soit le composé considéré. Le couplage comme le biofiltre BFB sont donc des systèmes résilients.

A l'issue de chaque perturbation, la hauteur de colonne nécessaire pour atteindre le niveau d'efficacité d'élimination observé avant les chocs est supérieure pour BFC comme pour BFB. La hauteur de colonne nécessaire pour atteindre un niveau d'abattement de 50% ($H_{1/2}$) augmente de 35-40 cm pour les deux composés.

Ce résultat met en évidence que le niveau de résistance du couplage et du biofiltre BFB est équivalent pour les composés soufrés organiques reconnus comme étant plus récalcitrants à la dégradation. Néanmoins, il convient de préciser que, d'après l'échelle de biodégradabilité des composés soufrés, le DMDS apparaît plus facilement biodégradable que le DMS. Or les capacités de résistance et de résilience de BFB et BFC pour ces composés sont similaires. Cette observation peut s'expliquer par le développement d'une communauté fonctionnelle assurant la dégradation de ces deux composés.

L'augmentation transitoire de la concentration en polluants ne semble pas avoir un effet toxique sur les communautés fonctionnelles puisque l'allure des profils de dégradation observée avant l'application des perturbations est récupérée quelques heures après la fin de chaque choc (**figure 50**). Comme mentionné précédemment, la diminution des performances peut provenir également de l'étape de transfert limitant la quantité de ces polluants hydrophobes au sein de la phase aqueuse.



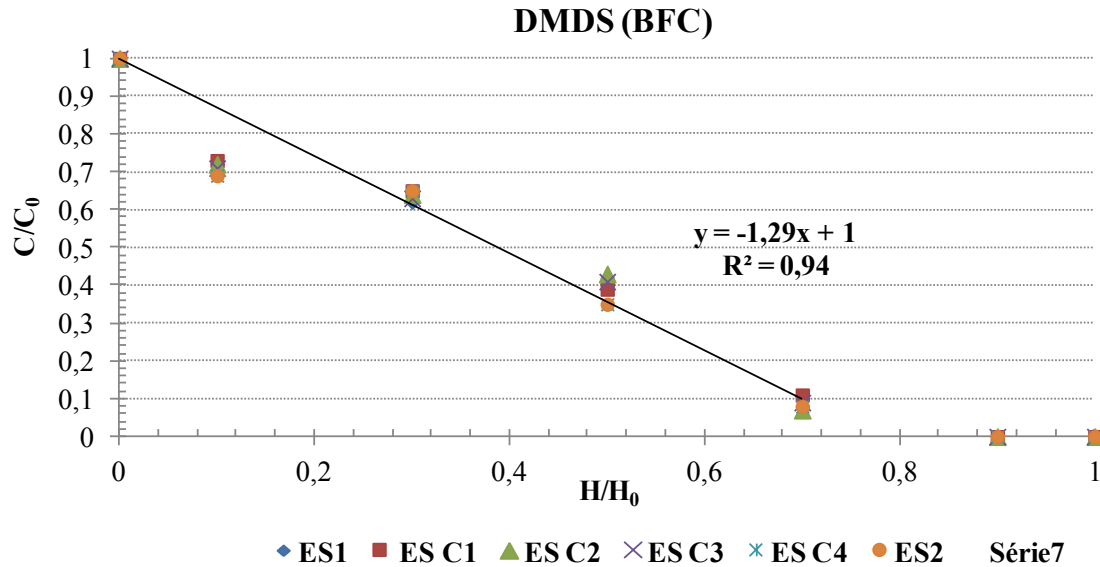


Figure 50 : Profils longitudinaux d'élimination du DMS et du DMDS respectivement au sein de BFC. Le rapport de la concentration C sur la concentration d'entrée C_0 à la hauteur H de colonne est tracé en fonction de la hauteur adimensionnelle H/H_0 . ES1 = 102^{ème} jour ; ES C1 = 112^{ème} jour ; ES C2 = 119^{ème} jour ; ES C3 = 126^{ème} jour ; ES C4 = 132^{ème} jour ; ES2 = 134^{ème} jour.

L'impact de ces chocs de concentrations sur les densités de peuplement de la communauté bactérienne totale et des populations d'*Hyphomicrobium* et de *Thiobacillus thioparus* a fait l'objet d'une attention particulière.

4.3.3.3. Impact des chocs de concentrations sur la densité de peuplement de la communauté bactérienne totale et des populations *Hyphomicrobium* et *Thiobacillus thioparus* au sein du couplage FP/BFC

La distribution des densités des bactéries totales ainsi que des populations d'*Hyphomicrobium* et de *Thiobacillus thioparus* a été estimée comme indiquée dans le § 4.3.2.3. Il convient de noter que les bactéries totales au sein de la phase aqueuse du filtre percolateur ont été estimées à l'état stationnaire ES1 et ES2.

Les densités de peuplement de la communauté bactérienne totale au sein du filtre percolateur sont de 1,6E+06 à ES1 et de 3,2E+06 à ES2. Les perturbations ne semblent pas avoir d'effet sur les niveaux de densité des bactéries totales au sein de FP.

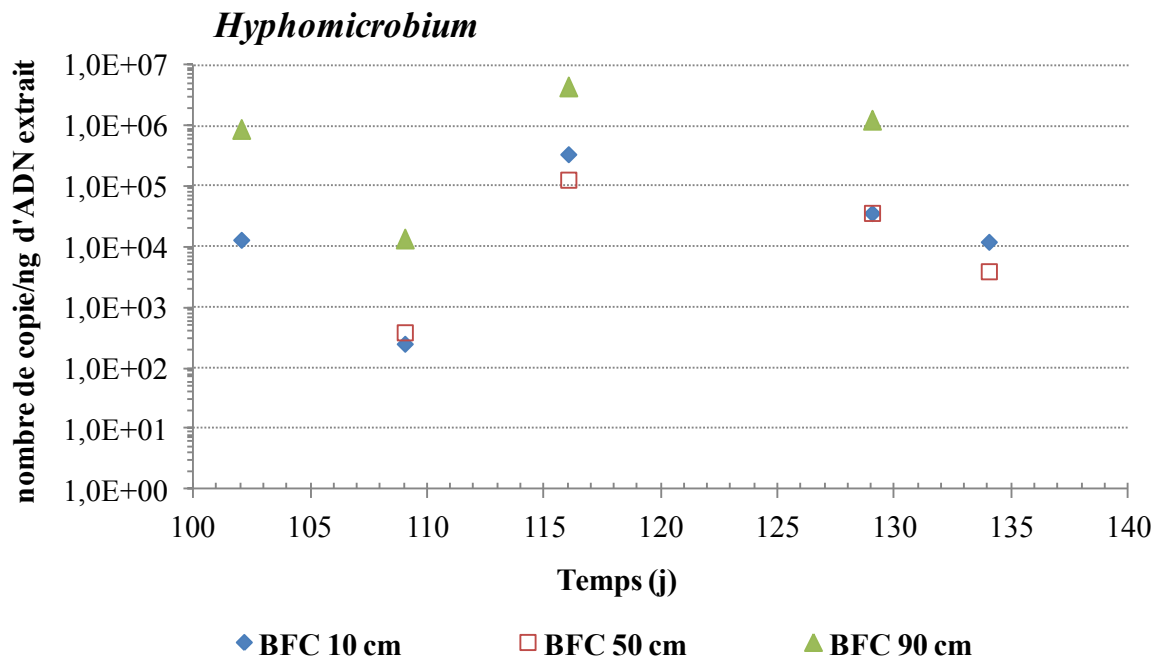
Les résultats de densités de peuplement de la communauté bactérienne totale au sein de BFC sont présentés dans le tableau 18.

Tableau 18 : Nombre moyen de copies du gène ADN_r-16S (région V3) par ng d'ADN extrait, quantifié par qPCR au cours du temps (t= 102 j (ES1) ; t= 109 j (C1) ; t= 116 j (C2) ; t= 129 j (C4) ; t= 134 j (ES2)) au sein du couplage FP/BFC. FP = Filtre percolateur ; BF = Biofiltre ; - = Résultats non exploitables.

Biofiltre	Prélèvement	H = 10 cm	H = 50 cm	H = 90 cm
BFC	ES1	4,0E+06	3,6E+06	3,0E+06
	C1	2,5E+06	1,6E+06	1,6E+06
	C2	2,0E+06	4,5E+06	4,4E+06
	C4	9,6E+06	4,8E+06	4,0E+06
	ES2	6,2E+06	-	-

Le taux de densité de peuplement de la communauté bactérienne totale est équivalent (de l'ordre de 10^6 nombre de copies) au sein du couplage FP/BFC, quelle que soit la hauteur de colonne et pendant toute la durée de l'expérience.

Les densités de peuplement des populations *Hyphomicrobium* et *Thiobacillus thioparus* en fonction du temps pour le couplage FP/BFC, en bas, à mi-hauteur et à 90 cm de hauteur de colonne sont présentées sur la figure 51.



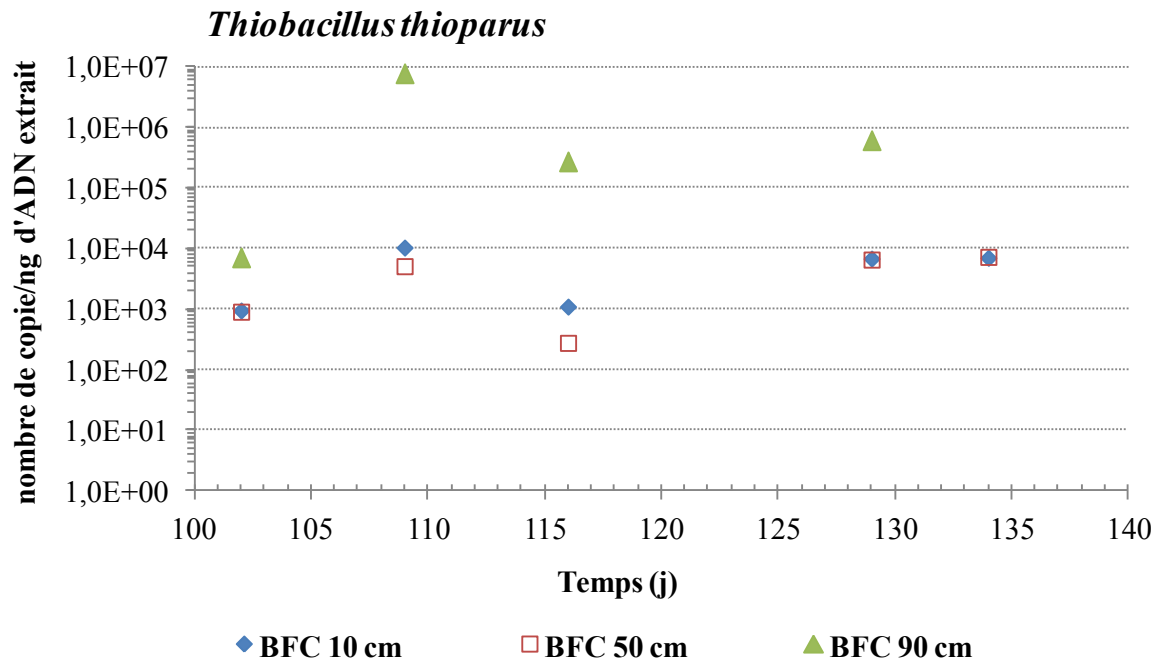


Figure 51 : Evolution du nombre de copies de l'ADNr-16S permettant de dénombrer les populations *Hyphomicrobium* et *Thiobacillus thioparus* en fonction du temps ($t = 102$ j (**ES1**) ; $t = 109$ j (**C1**) ; $t = 116$ j (**C2**) ; $t = 129$ j (**C4**) ; $t = 134$ j (**ES2**)) au sein de BFC à 10 cm, 50 cm et 90 cm de l'entrée des gaz. Les analyses qPCR d'*Hyphomicrobium* concernant les échantillons de matériaux prélevés à mi-hauteur de colonne pour ES1 et à 90 cm de hauteur de colonne pour ES2 n'ont pas été exploitables.

Il convient de préciser qu'au niveau du filtre percolateur, les densités de peuplement du genre *Hyphomicrobium* sont de $1,5E+03 \pm 0,3E+03$ et de $9,5E+01 \pm 1,2E+01$ pour ES1 et ES2 respectivement. Ce résultat semble montrer que les chocs successifs n'ont pas d'effet sur les niveaux de densité de cette population. Concernant *Thiobacillus thioparus*, les niveaux de densité sont faibles : $4,4E+01 \pm 0,8E+01$ et $6,7E+01 \pm 1,9E+01$ pour ES1 et ES2 respectivement.

En ce qui concerne la population *Hyphomicrobium* au sein de BFC, Les valeurs de densités diminuent en fonction de la hauteur de colonne (d'un facteur 10^2) lors du premier choc de concentration, puis tendent à augmenter à l'issue du choc C2 (entre 10^5 et 10^6 nombre de copies), puis semblent se stabiliser pour C4 et ES2. L'évolution des niveaux de densités pour BFC est similaire à celle observée pour BFB (**figure 46 - 47**). Les résultats obtenus semblent suggérer un effet d'adaptation de cette population dès l'application de la deuxième perturbation.

Comme le montre la **figure 51**, les valeurs de densités de peuplement de la population *Thiobacillus thioparus* semblent sensiblement constantes en fonction du temps. Il convient de noter que la valeur obtenue à partir d'un échantillon d'écorces de pin pour ES1 est plus faible ($7,0E+03$ copies) que celle correspondant aux autres échantillons (10^5 - 10^7 copies). Ce résultat peut s'expliquer par des pertes d'ADN lors de l'extraction ou une inhibition partielle de la polymérase par des impuretés présentes dans l'échantillon.

Les données obtenues semblent révéler que les perturbations n'ont pas d'impact sur les niveaux de densité de *Thiobacillus thioparus* sur toute la hauteur de colonne comme pour BFB.

Ces résultats de densités laissent suggérer que l'effet des perturbations sur les niveaux de densité des populations ciblées est quasi-inexistant comme pour BFB.

4.3.4. Effet mémoire

Nous avons tenté de mettre en évidence l'importance de l'histoire de ces systèmes complexes en appliquant à l'ensemble des bioréacteurs un choc de charge identique au dernier choc subit par les réacteurs régulièrement perturbés. Les résultats obtenus sont donnés dans ce paragraphe sous la forme des profils de concentration qui est un mode de représentation adapté dans le cadre de cette approche de l'effet mémoire du système.

4.3.4.1. Profil de concentration des composés en fonction de la hauteur de colonne

- Cas de l' H_2S

La **figure 52** représente les profils de concentration de l' H_2S en fonction de la hauteur de colonne pour BFA et BFB.

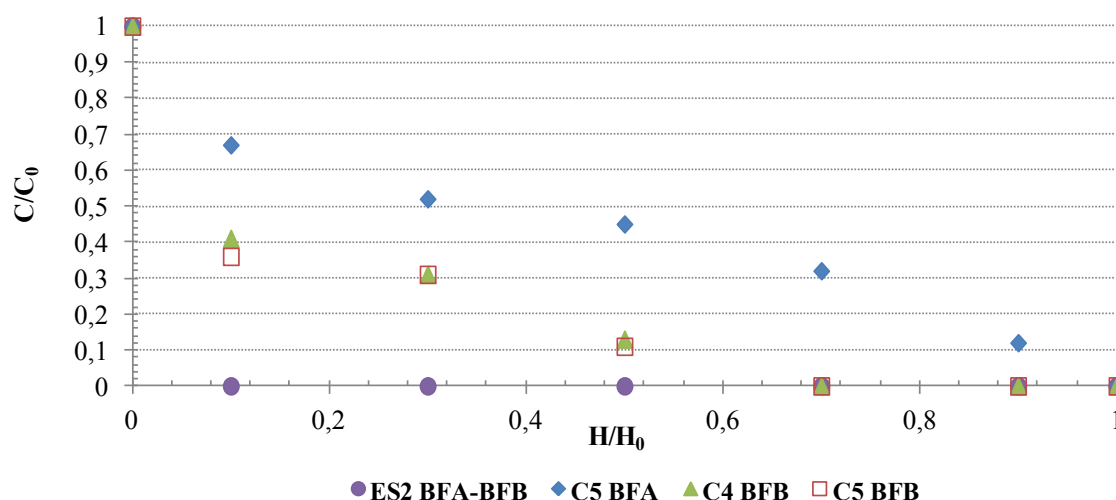


Figure 52 : Evolution des profils de concentration d' H_2S en fonction de la hauteur de colonne pour BFA et BFB lors du choc C5 en fonction de la hauteur de colonne. C5 : dernier choc de concentration d'une durée de 48h effectué sur l'ensemble des procédés biologiques. ES2 = 134^{ème} jour ; C5 = 142^{ème} jour.

Si les performances de chaque biofiltre sont examinées, l'analyse de la **figure 52** met en évidence que l'histoire du système ne semble pas avoir d'effet sur les niveaux d'abattement observés puisque ce composé est totalement éliminé en sortie de colonne. Cependant l'analyse des profils de concentration permet d'affiner l'analyse des résultats obtenus.

Comme le montre cette figure, l'impact du dernier choc sur BFA, qui a été alimenté par un gaz de composition stable pendant toute la durée de l'expérience, semble nettement plus marquée que pour BFB. Pour BFB, la hauteur de colonne nécessaire à l'élimination complète de l' H_2S est similaire à celle observée à l'issue de la perturbation C4 (70 cm), alors que pour BFA, la hauteur de colonne nécessaire pour atteindre les mêmes niveaux d'élimination de ce polluant augmente de 90 cm ($H/H_0 = 0,9$).

Concernant le FP, il n'a pas été possible d'approcher l'effet mémoire par défaut d'un FP de référence. De plus, la conception du réacteur ne nous a pas permis d'obtenir les profils de concentration en fonction de la hauteur de colonne. Néanmoins, comme pour BFB et BFA et en considérant les performances, l'impact de cette perturbation sur l'élimination de ce composé est inexistant.

La **figure 53** représente les profils de concentration de BFA, BFB et BFC en fonction de la hauteur de colonne lors du dernier choc effectué.

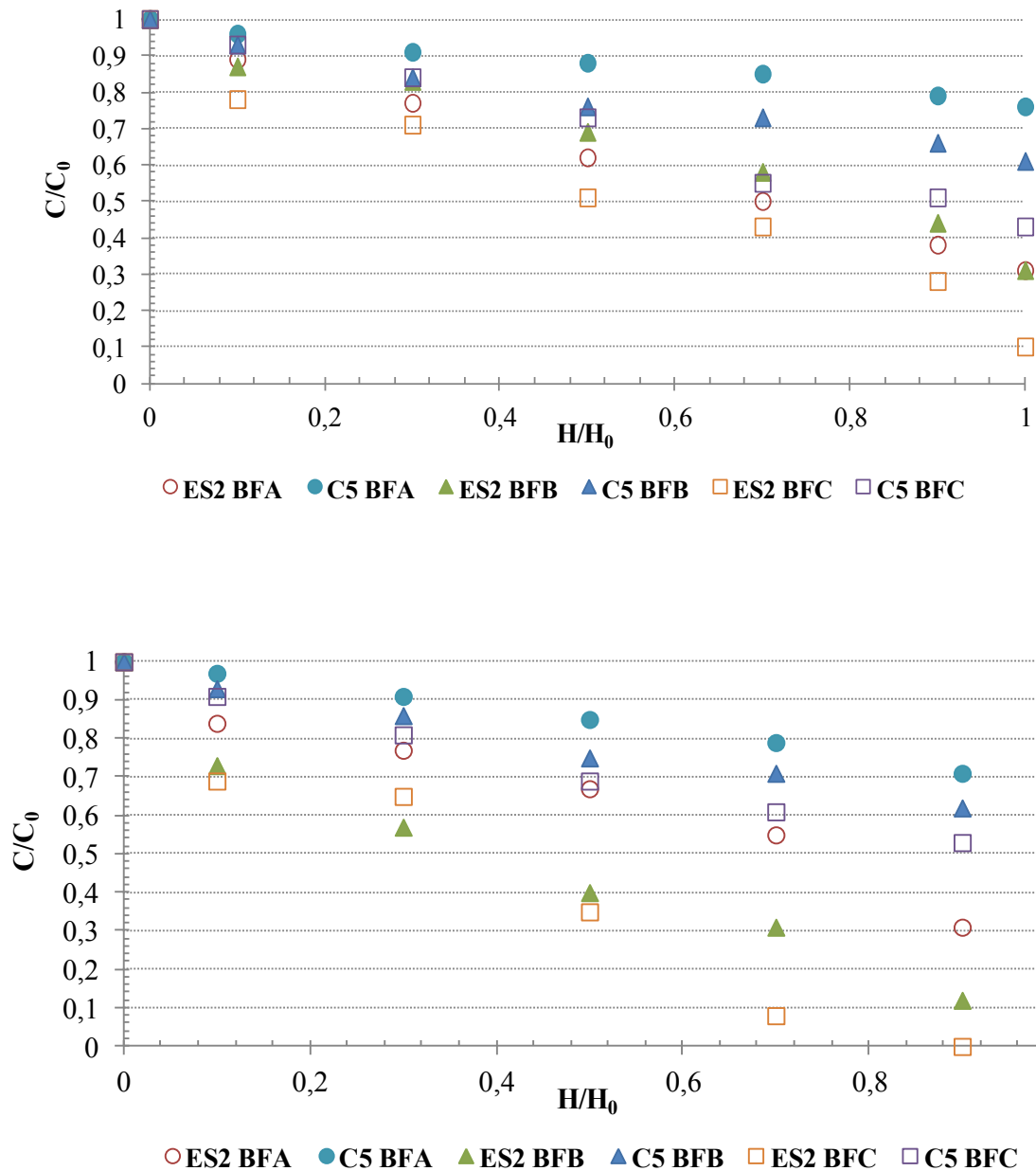


Figure 53 : Profils de concentration du DMS et du DMDS respectivement au sein de BFA, BFB et BFC lors du choc C5 en fonction de la hauteur de colonne. C5 : dernier choc de concentration d'une durée de 48h effectué sur l'ensemble des procédés biologiques. ES2 = 134^{ème} jour ; C5 = 142^{ème} jour.

D'après la figure ci-dessus, il convient d'observer une diminution de l'efficacité d'élimination d'environ $25\% \pm 6\%$ pour le DMS et $40\% \pm 8\%$ pour le DMDS pour BFB et BFC en sortie

de colonne. En revanche, le taux d'abattement du DMS et du DMDS diminue plus fortement pour BFA, le niveau d'abattement diminuant de 45% environ pour les deux composés.

De plus, en considérant les droites de régression linéaire, il convient de noter que la valeur de $H_{1/2}$ est supérieure pour BFA (200 et 160 cm pour les DMS et DMDS respectivement) que pour BFB (125 et 110 cm pour les DMS et DMDS respectivement) et BFC (87 et 88 cm pour les DMS et DMDS respectivement).

Pour BFB et BFC, le temps nécessaire pour récupérer des profils de concentration similaires à ceux observés à l'état stationnaire précédant le choc C5 est de 6 jours, alors que la résilience de BFA pour les DMS et DMDS est plus faible (le temps nécessaire pour atteindre un profil de concentration similaire à celui observé avant le choc est plus élevé).

Ces premiers résultats tendent à confirmer que l'histoire du système a une influence sur la réponse à un stress (Strickland et al., 2009 ; Cabrol et al., 2012). Il est généralement admis qu'un système soumis à un choc (BFB et BFC dans le cadre de notre étude) antérieur récurrent et de petite amplitude développe, en cas de nouvelle perturbation, ces capacités de résistance et de résilience par rapport à celles d'un système maintenu sous conditions constantes (BFA dans le cadre de notre étude). Ce résultat est d'autant plus intéressant qu'il est observé pour des composés récalcitrants comme l'ammoniac (Cabrol et al., 2012) ou les composés soufrés organiques dans notre cas.

4.3.4.2. Aspects microbiologiques

Le **tableau 19** présente la distribution des valeurs de la densité de la population d'*Hyphomicrobium* sur 10, 50 et 90 cm hauteur de colonne pour BFA, BFB et BFC.

Tableau 19 : Nombre de copies du genre *Hyphomicrobium* par ng d'ADN extrait durant l'état stationnaire ES2 et le dernier choc de concentration C5 en fonction de la hauteur de colonne, à partir des échantillons de matériaux prélevés au sein des biofiltres BFA et BFB et BFC. - = Donnée non exploitable.

Biofiltre	Etat	10 cm	50 cm	90 cm
BFA	ES2	2,1E+02 ± 1,4E+01	3,4E+04 ± 2,1E+03	3,1E+05 ± 5,3E+04
	C5	2,1E+01 ± 0,7E+01	6,1E+03 ± 0,9E+02	2,3E+05 ± 2,4E+04
BFB	ES2	3,4E+02 ± 1,1E+02	5,2E+02 ± 3,1E+01	6,4E+04 ± 7,4E+03
	C5	9,5E+02 ± 2,1E+05	7,3E+02 ± 2,9E+02	3,5E+05 ± 3,4E+04
BFC	ES2	1,2E+04 ± 2,7E+04	3,9E+03 ± 1,9E+02	-
	C5	1,4E+04 ± 2,8E+04	7,1E+03 ± 3,7E+02	3,7E+05 ± 1,3E+05

L'analyse de ce tableau semble montrer que le dernier choc n'a pas d'effet sur la distribution des niveaux de densité en fonction de la hauteur de colonne autant pour BFA que pour BFB et BFC. Les valeurs de densité des bactéries totales et de la population de *Thiobacillus thioparus* évoluent de manière équivalente à celle observée pour *Hyphomicrobium* (**annexe 10**). Deux hypothèses pour expliquer les résultats obtenus :

- ✓ L'histoire de l'écosystème semble impacter davantage l'activité de ces populations fonctionnelles que leurs niveaux de densité. Afin de valider cette suggestion, il aurait été intéressant de réaliser les analyses qPCR basées sur l'ARN.
- ✓ Il est possible que d'autres populations non ciblées dans le cadre de cette étude sont impliquées dans la dégradation de ces composés

4.3.5. Potentialités d'un filtre percolateur utilisé pour traiter un gaz réel

Dans le cadre de notre étude, les perturbations appliquées sur un filtre percolateur mis en œuvre à l'échelle du laboratoire a révélé que ce système est robuste : l'hydrogène sulfuré est totalement éliminé en conditions stationnaires et perturbées. Afin de confirmer la robustesse de ce procédé, il nous a semblé intéressant d'évaluer les potentialités de ce bioréacteur dans le cas du traitement d'un gaz réel. Cet effluent gazeux réel est issu du fonctionnement d'un équarrissage situé à Viriat (01). Cette unité pilote a été suivie pendant une période de 5 mois. Des analyses ponctuelles (toutes les deux semaines) d'échantillons de gaz prélevés en entrée

et en sortie du pilote ont été réalisées. Avant d'examiner les résultats obtenus, la composition du gaz a fait l'objet d'une attention particulière.

4.3.5.1. Composition de l'effluent gazeux réel

La composition de l'effluent gazeux alimentant l'unité pilote a été approchée de façon semi-quantitative par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Dans un souci de lisibilité, les composés ont été regroupés par famille chimique (**tableau 20**). Le tableau ci-dessous présente les proportions relatives des familles de composés contenus dans l'effluent gazeux. Le calcul de ces abondances relatives prend en compte deux prélèvements réalisés en début d'expérience.

Tableau 20 : Analyse semi-quantitative de l'effluent gazeux réel par GC-MS.

	Proportions relatives (%) des composés regroupés par famille chimique	Nombres de composés identifiés par famille
Aldéhydes	39,0 ± 3,4	16
Acides	20,0 ± 5,6	9
Alcools	10,8 ± 1,4	9
Soufrés	9,2 ± 0,3	4
Azotés	8,6 ± 3,9	6
Terpènes	5,6 ± 2,4	8
Cétones	4,7 ± 1,1	8
Aromatiques	0,7 ± 0,2	4
Esters	0,6 ± 0,4	6
Alcanes	0,5 ± 0,1	2
Furanes	0,4 ± 0,2	2

L'analyse par GC-MS a permis de mettre en évidence onze familles chimiques soit 74 composés traduisant la complexité de l'effluent gazeux en termes de nature des composés et de leur proportion relative. Cet effluent gazeux est composé majoritairement d'aldéhydes (39 %) et d'acides (20 %) représentant plus de la moitié (59%) des composés émis. Les composés

soufrés représentent 9,2% de la totalité des composés détectés (4^{ème} position). Les abondances relatives des autres familles sont nettement plus faibles et varient entre 5 et 0,3% (terpènes, aromatiques, ester, etc.).

Il convient de noter que la concentration en ammoniac en entrée du filtre percolateur est de $5,1 \text{ mg.m}^{-3} \pm 3,4 \text{ mg.m}^{-3}$. L'analyse quantitative, par GC-FPD, des composés soufrés à partir des échantillons de gaz prélevés sur la période de fonctionnement du réacteur est présentée sur la **figure 54**.

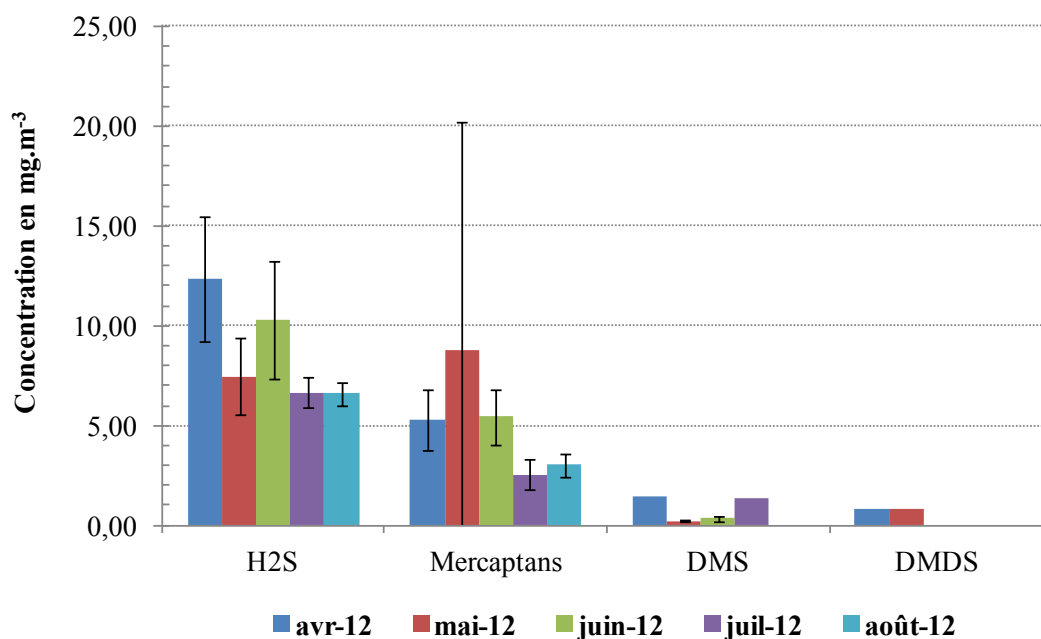


Figure 54 : Evolution de la concentration des composés soufrés dans l'effluent gazeux à traiter pendant la durée de l'étude. Les écart-types ont été calculés sur la base des analyses mensuelles (2 à 3 analyses par mois).

L'analyse des composés soufrés par GC-FPD a révélé la présence d'H₂S et de méthylmercaptan en majorité (entre $6,7 \text{ mg.m}^{-3} \pm 0,8 \text{ mg.m}^{-3}$ à $12,0 \text{ mg.m}^{-3} \pm 3,1 \text{ mg.m}^{-3}$ et $2,6 \text{ mg.m}^{-3} \pm 0,8 \text{ mg.m}^{-3}$ à $8,8 \text{ mg.m}^{-3} \pm 11,5 \text{ mg.m}^{-3}$ respectivement). Les écart-types sont élevés ce qui traduit l'activité fluctuante du site. Le DMS et DMDS sont généralement retrouvés sous forme de traces : entre 0,2 et 1 mg.m⁻³ (**Figure 54**).

4.3.5.2. Performances de l'unité pilote

Les performances du filtre percolateur sont calculées à partir des analyses d'échantillons de gaz prélevés en entrée et sortie du bioréacteur.

Les performances globales de l'unité pilote ont été estimées par l'analyse des Composés Organiques Volatils (COV) totaux non méthaniques : le taux d'abattement des COV totaux est de $70 \pm 5\%$ sur toute la période de fonctionnement du filtre percolateur.

L'efficacité d'élimination de l' H_2S et du méthylmercaptan a été particulièrement examinée (**Figure 55**).

Le taux d'abattement de l' H_2S atteint $92\% (\pm 7\%)$ et celui du méthylmercaptan est de $76\% (\pm 15\%)$.

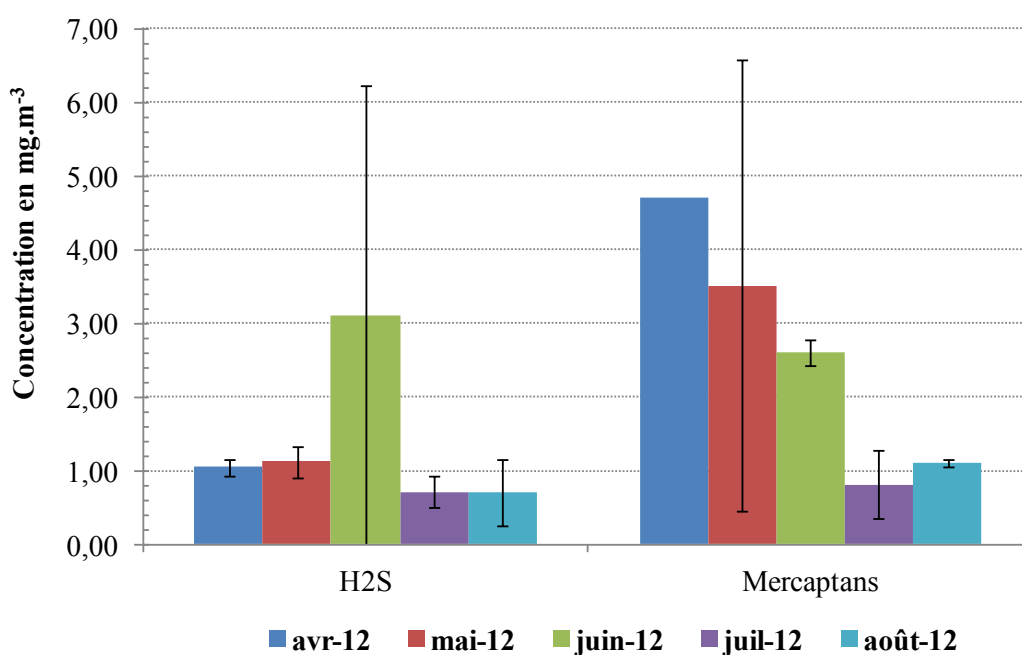


Figure 55 : Evolution de la concentration des composés soufrés (H_2S et méthylmercaptan) en sortie de colonne et en fonction du temps.

Des analyses complémentaires de la phase aqueuse révèlent que la concentration en ammonium (NH_4^+) dans la phase aqueuse est élevée de l'ordre de 2 g.L^{-1} ($1,9 \pm 0,2 \text{ g.L}^{-1}$).

Les valeurs de pH sont proches de la neutralité durant toute la durée de l'expérience : $7,4 (\pm 0,6)$.

Ce résultat n'est pas surprenant du fait du transfert de l'ammoniac gazeux dans la phase aqueuse. La présence d'ammoniac dans l'effluent gazeux facilite, par sa forte solubilité, le maintien du pH de la phase aqueuse, siège des réactions de biodégradation. De plus, la concentration en sulfates augmente dans la phase aqueuse ($> 6000 \text{ mg.L}^{-1}$) attestant de la biodégradation des composés soufrés au sein du filtre percolateur.

Si à l'échelle du laboratoire et dans le cadre du traitement d'un mélange de composés soufrés (H_2S , DMS et DMDS), seul l'abattement de l' H_2S est observé, le traitement d'un gaz réel, caractérisée par une forte variabilité en termes de concentrations en entrée, révèle les potentialités du filtre percolateur pour éliminer non seulement ce composé mais également d'autres composés soufrés plus récalcitrants comme le méthylmercaptan (efficacité d'élimination de l'ordre de 80%).

Ces premiers résultats confirment les potentialités du filtre percolateur pour traiter les composés soufrés. Dans l'objectif d'améliorer les performances de ce bioréacteur en général et les niveaux d'abattement des composés soufrés récalcitrants en particulier, des travaux complémentaires sont essentiels pour affiner les conditions opératoires et mieux comprendre les mécanismes biologiques régnant au sein d'un tel système.

4.4. Conclusion

Ce chapitre a permis d'étudier l'influence de l'impact de perturbations transitoires (chocs de concentrations répétés et de courte durée) sur les performances d'un biofiltre seul (BFB) et du couplage de deux bioprocédés FP/BFC.

Dans le cadre de notre étude privilégiant des chocs répétés et de moyenne amplitude (facteur 7 à 15), les résultats obtenus ont mis en évidence la robustesse de ces systèmes. L'analyse des profils de concentration en fonction de la hauteur de colonne révèle que le biofiltre BFB ainsi que le couplage FP/BFC sont fortement résilients, le délai nécessaire à la récupération du niveau d'abattement avant le choc est inférieur ou égal à 72 heures. Néanmoins, à court terme, la réponse des bioprocédés aux pics de charge diffère selon les composés : une perte temporaire de l'efficacité d'élimination des composés soufrés (DMS et DMDS) est observée alors que l'abattement de l' H_2S n'est pas impacté. Les bioréacteurs semblent donc plus résistants pour le composé facilement biodégradable (H_2S) et moins résistant pour les composés plus récalcitrants (DMS et DMDS).

Les perturbations transitoires n'ont pas d'effet sur les niveaux de densité des bactéries totales. L'impact des chocs sur les niveaux de densité de deux populations fonctionnelles diffère. La pression de sélection exercée par la première perturbation semble induire une perte temporaire de densité d'*Hyphomicrobium*, les résultats observés à l'issue des chocs suivants suggérant un effet d'adaptation de cette population sur le plan physiologique (augmentation du taux de croissance et d'activité enzymatique, augmentation du taux de transcription et d'expression des gènes). En revanche, les chocs de charge répétés n'ont pas d'effet sur les niveaux de densités de peuplement des genres *Hyphomicrobium* et de *Thiobacillus thioparus*.

Ce travail a permis d'évaluer qualitativement l'importance de l'histoire de l'écosystème sur les performances. Les biofiltres BFB et BFC acclimatée à des chocs récurrents apparaissent plus robustes en termes de résistance (pour le DMS particulièrement) et de résilience. Ces résultats sont en accord avec ceux mentionnés par d'autres auteurs qui ont déterminé quantitativement les indices de résistance et de résilience dans le cadre du traitement d'un effluent gazeux complexe par biofiltration.

En revanche, il semblerait que l'histoire des bioréacteurs n'a pas d'effet sur les densités de peuplement des bactéries totales et des populations d'intérêt que sont *Hyphomicrobium* et *Thiobacillus thioparus*. Cet effet mémoire n'a donc pas été confirmé au niveau de la composante microbienne. Afin de le visualiser, il aurait été intéressant de réaliser les analyses

qPCR basées sur l'ARN. Il est probable également que cet effet ait un impact plus marqué sur d'autres populations fonctionnelles non ciblées dans le cadre de cette étude. Ces résultats devront être approfondis et complétés par des manipulations complémentaires visant à caractériser de manière systématique l'impact de chocs récurrents sur les composantes fonctionnelle et microbienne de ces systèmes.

Pour terminer, il nous a paru intéressant d'approcher l'effet de la variabilité du gaz à traiter sur le FP, les essais en laboratoire n'ayant pas permis de visualiser un effet de ces perturbations transitoires sur le fonctionnement de ce réacteur. Un filtre percolateur a été mis en œuvre pour traiter un effluent gazeux réel émis par l'activité d'un équarrissage pendant 5 mois. Les performances de ce bioprocédé concernant les composés soufrés sont élevées : une dégradation quasi complète de l' H_2S (efficacité d'élimination de 92%), et l'efficacité d'élimination du méthylmercaptan est proche de 80%. Ces résultats préliminaires sont prometteurs et nous encouragent à poursuivre les travaux concernant la mise en œuvre de filières de traitement pour améliorer les performances de ces procédés biologiques.

Conclusion générale

L'activité du secteur de la gestion et du traitement des déchets émet dans l'atmosphère des composés volatils à l'origine de nuisances odorantes, fortement ressenties par les riverains des installations. La législation en vigueur, de plus en plus contraignante pour les industriels émetteurs, imposent, dans la majorité des cas, le traitement de ces émissions gazeuses. Les procédés biologiques occupent une place de choix car particulièrement adaptés au traitement de ces effluents caractérisés par des débits élevés et de faibles concentrations. Parmi les procédés biologiques, la biofiltration est la plus utilisée à l'échelle industrielle. Une des limitations inhérentes à ces procédés biologiques réside toutefois dans la difficulté à éliminer des composés récalcitrants. De plus, les seuils de perception des composés odorants et plus particulièrement des composés soufrés (hydrogène sulfuré, méthylmercaptop, DiMéthylSulfure (DMS) et DiMéthylDiSulfure (DMDS)), très bas (de l'ordre du $\mu\text{g.m}^{-3}$), obligent à atteindre des niveaux d'abattement élevés. Il devient donc de plus en plus difficile de satisfaire aux normes de rejet par la mise en œuvre d'un procédé unique de traitement. Une solution pertinente pour pallier les limitations inhérentes aux biotechniques et satisfaire aux normes de rejet consiste au couplage de procédés.

Pour améliorer le traitement de composés soufrés (H_2S , DMS et DMDS) en mélange, le but de ce travail de thèse a été d'évaluer les potentialités du couplage de deux procédés biologiques, que sont le filtre percolateur et le biofiltre, en utilisant des systèmes modèles (permettant le contrôle des conditions opératoires) les plus réalistes possibles.

Les principaux résultats de ces travaux de thèse sont les suivants.

D'après la littérature, les communautés bactériennes oxydant les composés soufrés sont sensibles aux conditions environnementales en général et au pH en particulier. Aussi, dans un premier temps, l'impact du pH sur l'activité de dégradation de composés soufrés en mélange (H_2S , DMS et DMDS) la structuration de la communauté bactérienne totale a-t-il fait l'objet d'une attention particulière. Des microcosmes, dans lesquels la biomasse est libre, ont été mis en œuvre pour répondre à ce questionnement.

Si le pH de la phase aqueuse n'a pas d'impact sur la biodégradation de l' H_2S , les niveaux d'abattement des composés soufrés organiques semblent gouverner par le pH de la phase aqueuse. Une élimination complète de ces composés est observée pour une gamme de pH comprise entre 5 et 7. En revanche, pour un pH acide (pH 1 et 3), les taux d'abattement du DMS et du DMDS sont faibles (10 et 20% respectivement). La pression de sélection imposée aux microcosmes au départ de l'expérience (nature et concentration des composés, pH) influence fortement la structure des communautés bactériennes dans ces microcosmes. Ces

résultats semblent également révéler que des communautés distinctes provenant d'un inoculum différent (même source, temps de prélèvement différents) peuvent atteindre des performances de dégradation similaires et stables.

Ces premiers travaux apportent des données intéressantes sur la dégradation biologique d'un mélange de composés soufrés et permettent d'établir des recommandations concernant le traitement de ces composés. Elles ont été prises en compte dans la seconde phase de l'étude dont l'objectif est d'évaluer les potentialités du couplage de deux procédés biologiques (filtre percolateur (FP)/biofiltre (BFC)) utilisé pour traiter un mélange de composés soufrés en conditions stationnaires. La régulation du pH de la phase liquide étant plus aisément contrôlée au sein du filtre percolateur que celle du biofiltre, il est envisagé d'augmenter la biodégradabilité des composés soufrés au sein du lit percolateur, et d'affiner l'élimination des composés récalcitrants par post-traitement (biofiltre). Les travaux réalisés ont permis de mettre en évidence l'intérêt de mettre en œuvre un tel couplage car il permet d'améliorer sensiblement les performances atteintes par un biofiltre seul (BFA et BFB). L' H_2S et le DMDS sont complètement éliminés et le taux d'abattement du DMS est de l'ordre de 80-85%. Néanmoins, l'ajustement des conditions opératoires du filtre percolateur (débit de recirculation de la phase liquide) permettrait probablement d'améliorer les performances obtenues en initiant la dégradation des composés plus récalcitrants (DMS et DMDS) au sein de celui-ci et par voie de conséquence d'épurer totalement le gaz pollué.

Les densités de peuplement des bactéries totales au sein du biofiltre relié au filtre percolateur sont similaires à celles observées au sein de biofiltres seuls et sont homogènes sur toute la hauteur de colonne. La colonisation des bioréacteurs par deux populations d'intérêt *Hyphomicrobium* et *Thiobacillus thioparus* a été également examinée. Si les niveaux de densité augmentent linéairement avec la hauteur de colonne au sein des biofiltres de référence (BFA et BFB) et de celui couplé au filtre percolateur (BFC), il semblerait que la pression de sélection imposée par la composition du gaz en entrée de BFC (DMS et DMDS exclusivement) induise une colonisation plus homogène des matériaux supports par ces deux populations. Ces résultats permettent donc de suggérer leur implication dans la biodégradation du DMS et du DMDS. Néanmoins, cette hypothèse nécessite d'être confirmée par la mesure de l'activité de ces populations.

Ces travaux ont permis de valider l'utilisation de différents matériaux supports disposés sous forme de strates (plaquette papetière/fibre de coco/écorce de pin) comme garnissage de

biofiltres. Cette disposition en strates ne semble pas influencer la distribution des activités de biodégradation.

A l'échelle industrielle, l'activité fluctuante des procédés de traitement des déchets (compostage, équarrissage) se traduit par une forte variabilité de l'effluent gazeux, en termes de composition et de concentration. Cette variabilité peut perturber le fonctionnement des procédés biologiques de traitement. La dernière partie de l'étude a ainsi eu pour objectif d'examiner le comportement du couplage filtre percolateur/biofiltre soumis à des perturbations transitoires caractérisées par la répétition d'une brusque augmentation de concentration sur une courte période. Les résultats obtenus ont mis en évidence la robustesse de ces systèmes. L'analyse des profils de concentration en fonction de la hauteur de colonne révèle que le biofiltre BFB ainsi que le couplage FP/BFC sont fortement résilients, le délai nécessaire à la récupération du niveau d'abattement avant le choc est inférieur ou égal à 72 heures. Néanmoins, à court terme, la réponse des bioprocédés aux pics de charge diffère selon les composés : une perte temporaire de l'efficacité d'élimination des composés soufrés (DMS et DMDS) est observée alors que l'abattement de l' H_2S n'est pas impacté. Les bioréacteurs semblent donc plus résistants pour le composé facilement biodégradable (H_2S) et moins résistants pour les composés plus récalcitrants (DMS et DMDS).

Les perturbations transitoires n'ont pas d'effet sur les niveaux de densité des bactéries totales. L'impact des chocs sur les niveaux de densité de deux populations fonctionnelles diffère. La pression de sélection exercée par la première perturbation semble induire une perte temporaire de densité d'*Hyphomicrobium*, les résultats observés à l'issue des chocs suivants suggérant un effet d'adaptation de cette population sur le plan physiologique (augmentation du taux de croissance et d'activité enzymatique, augmentation du taux de transcription et d'expression des gènes). En revanche, les chocs de charge répétés n'ont pas d'effet sur les niveaux de densités de peuplement de *Thiobacillus thioparus*.

Pour terminer, il nous a paru intéressant d'approcher l'effet de la variabilité du gaz à traiter sur le FP, les essais en laboratoire n'ayant pas permis de visualiser un effet de ces perturbations transitoires sur le fonctionnement de ce réacteur. Un filtre percolateur a été mis en œuvre pour traiter un effluent gazeux réel émis par l'activité d'un équarrissage pendant cinq mois. Les performances de ce bioprocédé concernant les composés soufrés sont élevées : une dégradation quasi complète de l' H_2S (efficacité d'élimination de 92%), et l'efficacité d'élimination du méthylmercaptoproche de 80%. Ces résultats préliminaires sont

prometteurs et nous encouragent à poursuivre les travaux concernant la mise en œuvre de filières de traitement pour améliorer les performances de ces procédés biologiques.

Quelques pistes d'études complémentaires sont proposées à l'issue de ce travail :

- ✓ Dans un premier temps, il est nécessaire d'ajuster les conditions opératoires du filtre percolateur permettant de favoriser le transfert de ces composés en phase aqueuse afin d'initier la dégradation biologique des composés soufrés organiques au sein de ce bioréacteur. Une autre piste consiste à examiner l'inoculation du filtre percolateur : biomasse provenant des biofiltres dégradant les composés soufrés.
- ✓ En dépit des difficultés liées à des connaissances partielles sur les populations impliquées dans la dégradation des composés soufrés organiques et l'absence d'outils (moléculaires) disponibles à ce jour, une connaissance approfondie des mécanismes biologiques s'impose en privilégiant la communauté fonctionnelle : activité des populations d'intérêt ciblées dans le cadre de cette étude, identification d'autres populations susceptibles d'être impliquées dans la dégradation de ces composés. La technique SIP (Stable Isotope Probing) permettrait d'identifier les populations fonctionnelles et actives dominantes, en visualisant l'incorporation par les microorganismes d'un polluant radioactivement marqué.
- ✓ Evaluer à l'échelle du laboratoire et de manière systématique l'impact de perturbations représentatives de celles rencontrées sur site industriel sur la robustesse du couplage. La poursuite des travaux sur site est indispensable afin de valider les résultats expérimentaux obtenus en laboratoire en conditions réelles.

Bibliographie

Abe K., Machida W. (1982), An effective process for treatment of malodor in exhaust gas by hypochlorite, *Bulletin of the chemical society of Japan*, 55, pp.3677-3678.

Adib, F., Bagreev, A., Bandosz, T.J. (1999), Effect of pH and Surface Chemistry on the Mechanism of H₂S Removal by Activated Carbons, *Journal of Colloid and Interface Science*, 216, pp.360-369.

Aizpuru, A., Malhautier, L., Roux, J.C., et Fanlo, J.L. (2001), Biofiltration of a mixture of volatile organic emissions, *Journal of the Air and Waste Management Association*, 51, pp.1662-1670.

Aizpuru, A., Malhautier, L., Roux, J.C., et Fanlo, J.L. (2003), Biofiltration of a mixture of volatile organic compounds on granular activated carbon, *Biotechnology and Bioengineering*, 83, pp.479-488.

Allen M.R., Braithwaite A., Hills C. (1997), Trace organic compounds in landfill gas at seven U.K. waste disposal sites, *Environmental science technology*, 31, 1054p.

Alvarez-Hornos, F. J., Gabaldon, C., Martinez-Soria, V., Martin, M., Marzal, P., et Penya-roja, J.M. (2008), Biofiltration of ethylbenzene vapours : influence of the packing material, *Bioresource Technology*, 99, pp.269-276.

Arellano-Garcia, L., Revah, S., Ramirez, M., Gomez, J.M., Cantero, D. (2010), Dimethyl Sulphide degradation using immobilized *Thiobacillus thioparus* in a biotrickling filter. *Environmental Technology*, 30, pp.1273-1279.

Arnold M., Tuula K., Sari K. (2008), Development of a system for the continuous monitoring of odour annoyance from a waste centre, *Chemical Engineering Transactions*, 15, pp.159-166.

Aroca, G., Urrutia, H., Núñez, D., Oyarzún, P., Arancibia, A., Guerrero, K. (2007), Comparison on the removal of hydrogen sulfide in biotrickling filters inoculated with *Thiobacillus thioparus* and *Acidithiobacillus thiooxidans*, *Electronic Journal of Biotechnology*, 10, pp.514-520.

Atlas R.M., Bartha R. (1997), Microbial ecology : Fundamentals and applications, Fourth edition, Benjamin/Cummings Science Publishing, Menlo Park, California, 694p.

Balez S. (2001), Ambiances olfactives dans l'espace construit, Thèse de Doctorat, Université de Nantes, France, pp. 23-25.

Bansal R.C., Donnet J.B., Stoeckli F. (1988), Active carbon. Marcel Dekker, inc. *New York and Basel*, chap.2.

Barona, A., Elias, A., Arias R., Cano, I., et Gonzalez R. (2004), Biofilter response to gradual and sudden variations in operating conditions, *Biochemical Engineering Journal*, 22, pp.25-31.

Bayard R., Gourdon R. (2010), Traitement biologique des déchets, Techniques de l'Ingénieur, G2060v2.

- Boden, R., Borodina, E., Wood, A.P., Kelly, D.P., Murrell, J.C., Schafer H. (2011),** Purification and characterization of dimethylsulfide monooxygenase from *Hyphomicrobium sulfonivorans*, *Journal of Bacteriology*, 193, pp.1250-1258.
- Bonnin, C., Martin, G., Gragnic, G. (1994),** Biopurification of odorous gases in urban wastewater treatment plants. *Studies in environmental science*, 61, pp.431-444.
- Boon, N., Top, E.M., Verstraete, W., Siciliano, S.D. (2003),** Bioaugmentation as a tool to protect the structure and function of an activated-sludge microbial community against a 3-chloroaniline shock load, *Applied and Environmental Microbiology*, 69, pp.1511-1520.
- Borin, S., Marzorati, M., Brusetti, L., Zilli, M., Cherif, H., Hassen, A., Converti, A., Sorlini, C., Daffonchio, D. (2006),** Microbial succession in a compost-packed biofilter treating benzene-contaminated air, *Biodegradation*, 17, pp.79-89.
- Bouchy L., Senante E., Martel J.L., Dauthuille P. (2007).** Potentiel de création d'odeurs sur les sites de compostage. *Techniques, Sciences, Méthodes*, 5, pp.107-114.
- Bourcier J. (2005),** Equarrissage : traitement des émissions gazeuses, *Techniques de l'ingénieur*, G1905.
- Brune, A., Frenzel, P., Cypionka, H. (2000).** Life at the oxic-anoxic inter face : microbial activities and adaptations. *FEMS Microbiol.Rev.* 24, pp.691-710.
- Burgess J. E., Parsons S.A., Stuetz R.M. (2001),** Developments in odour control and waste gas treatment biotechnology : a review. *Biotechnology advances*, 19, pp.35-63.
- Busca G., Pistarino C. (2003),** Technologies for the abatement of sulphide compounds from gaseous streams: a comparative overview. *Journal of loss prevention in the process industries*, 16, pp.363-371.
- Cabrol L. (2010),** Evaluation de la robustesse d'un système de biofiltration d'effluent gazeux de compostage : approche structurelle et fonctionnelle, Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II, France, 245p.
- Cabrol L., et Malhautier L. (2011a),** Integrating microbial ecology in bioprocess understanding: the case of gas biofiltration, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 90, pp.837-849.
- Cabrol L., Malhautier L., Poly F., Lepeuple A.S., Fanlo J.L. (2011b),** Bacterial dynamics in steady-state biofilters: beyond functional stability, *FEMS Microbiology Ecology*, 79, pp.260-271.
- Cabrol L., Malhautier L., Poly F., Le Roux, X., Lepeuple A.S., Fanlo J.L. (2012),** Resistance and resilience of removal efficiency and bacterial community structure of gas biofilters exposed to repeated shock loads, *Bioresource Technology*, 123, pp.548-557.

- Cáceres, M., Silva, J., Morales, M., San Martín, R., Aroca, G.** (2012), Kinetics of the bio-oxidation of volatile reduced sulphur compounds in a biotrickling filter, *Bioresource Technology*, 118, pp.243-248.
- Cai Z., Kim D., Sorial G.A.** (2004), Evaluation of a trickle-bed air biofilter performance for MEK removal, *Journal of hazardous materials*, 114, pp.153-158.
- Cai Z., Kim D., Sorial G.A.** (2007), A comparative study in treating two VOC mixtures in trickle bed air biofilters, *Chemosphere*, 68, pp.1090-1097.
- Canovai A., Valentini F., Manetti E., Zagaroli M.** (2004), Odor control in composting plants : results from full-scale experiences, *Journal of Environmental Science and Health*, 39, pp.927-937.
- Carrigg, C., Rice, O., Kavanagh, S., Collins, G., O'Flaherty, V.** (2007), DNA extraction method affects microbial community profiles from soils and sediments, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 77, pp.955-964.
- Chen, Y., Yin J., and Fang, S.** (2004), Biological removal of air loaded with a hydrogen sulfide and ammonia mixture, *Journal of environmental sciences*, 16 (4), pp.656-661.
- Chen, J.** (2010), Removal of Hydrogen Sulfide in a Biotrickling Filter under Extremely Acidic Conditions, Proceeding ICDMA '10 Proceedings of the 2010 International Conference on Digital Manufacturing & Automation, 2, pp.158-161.
- Chiriac R.** (2004). Caractérisation des émissions de composés organiques volatils issus des centres de stockage de déchets ménagers et assimilés de leur dispersion dans l'environnement. Thèse INSA, Lyon, 04ISAL0077.
- Cho, K. S., Hirai, M., Shoda, M.** (1991), Removal of DMDS by the peat seeded with night soil sludge, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 71, pp.289-291.
- Chung, Y.C., Huang, C., Tseng, C.P.** (1996), Biotreatment of H₂S and NH₃-containing waste gases by co-immobilized cells biofilter, *Chemosphere*, 41, pp.329-336.
- Chung, Y.C., Huang, C., Tseng, C.P.** (2001), Biological elimination of H₂S and NH₃ from waste gases by biofilter packed with immobilized heterotrophic bacteria, *Chemosphere*, 43, pp.1043-1050.
- Chung, Y.C., Lin, Y.Y., Tseng, C.P.** (2005), Removal of high concentration of NH₃ and coexistent H₂S by Biological Activated Carbon (BAC) biotrickling filter, *Bioresource Technology*, 96, pp.1812-1820.
- Chung, Y.C., Cheng, C.Y., Chen, T.Y., Hsu, J.S., Kui, C.C.** (2010), Structure of the bacterial community in a biofilter during Dimethyl Sulfide (DMS) removal process. *Bioresource Technology*, 100, pp.7176-7179.
- Chunjing, L., Jian, L., Hong, H., Jia, L., Shujing, P., Chao, L.** (2011), Comparative Study of Using Different Flow Pattern Bio-trickling Filter Treating Hydrogen Sulfide, *Computer Distributed Control and Intelligent Environmental*, pp.698-701.

CITEPA. (2006), Inventaire des émissions de polluants atmosphériques en France au titre de la convention sur la pollution atmosphérique transfrontalière à longue distance et de la directive européenne relative aux plafonds d'émissions nationaux (NEC), Centre Interprofessionnel Technique d'Etudes de la Pollution Atmosphérique, Ref. CITEPA 622/Convention MEDD 04 000074, 203p.

Cohen Y. (2001), Biofiltration - the treatment of fluids by microorganisms immobilized into the filter bedding material: a review, *Bioresource technology*, 77, pp.257-274.

Costerton J.W., Lewandowski Z., Debeer D., Calwell D., Korber D., James G. (1994), Biofilms, the Customized Microniche, *Journal of bacteriology*, 176, pp.2137-2142.

Cox H.H.J., Deshusses M.A. (1998), Biological waste air treatment in biotrickling filters. *Current opinion in biotechnology*, 9, pp.256-262.

Cresson R. (2006), Etude du démarrage de procédés intensifs de méthanisation : Impact des conditions hydrodynamiques et de la stratégie de montée en charge sur la formation et l'activité du biofilm. Thèse de Doctorat, Université Montpellier II.

Curtis, T.P., Sloan, W.T. (2004), Prokaryotic diversity and its limits: microbial community structure in nature and implications for microbial ecology, *Current Opinion in Microbiology*, 7, pp.221-226.

Delhoménie M. C., Heitz M. (2005), Biofiltration of air : a review. *Critical reviews in biotechnology*, 25, pp.53-72.

Deng, Z.H., Ning, P., Zhou, C., Huang, J.H., Yang, K. (2012), The Biotechnology for Odours-A Review, *Advanced Materials Research*, 403, pp.1432-1437.

Desauziers V., Fanlo J.L., Guillot J.M. (2006), Gestion des problèmes environnementaux dans l'industrie agroalimentaire, *Collection sciences et techniques agroalimentaires*, pp. 49-76.

Deshusses, M. A., Johnson, C.T., Leson, G. (1999), Biofiltration of high loads of ethyl acetate in the presence of toluene. *Journal of Air Waste Management Association*, 49, pp.973-979.

Deshusses, M., A. and C. T. Johnson, C.T. (2000), Development and validation of a simple protocol to rapidly determine the performance of biofilters for VOC treatment, *Environmental science and technology*, 34, pp.461-467.

Devinny J.S., Deshusses M.A., Webster T.S. (1999), Biofiltration for Air Pollution control, *Lewis Publishers*, 299p.

Dharmavaram, S., Casey, J., Timmermans, T., and Van Lith, C. 1993, In Proceedings of the 86th Annual Meeting and Exhibition Air & waste management association. *Air & waste management association*, Pittsburgh, PA, pp.13;

Diks R.M.M., Ottengraf S.P.P. (1991), Verification studies of a simplified model for the removal of dichloromethane from waste gases using a biological trickling filter, *Bioprocesses Engineering*, 6, pp.93-99.

Ding, Y., Shi, J.Y., Wu, W.X., Yin, J., et Chen, Y.X. (2007), Trimethylamine (TMA) biofiltration and transformation in biofilters, *Journal of Hazardous Materials*, 143, pp.341-348.

Ding, Y., Wu, W., Han, Z., et Chen, Y. (2008), Correlation of reactor performance and bacterial community composition during the removal of trimethylamine in three-stage biofilters, *Biochemical Engineering Journal*, 38, pp.248-258.

Dumont, E., Andres, Y., Le Cloirec, P., Gaudin, F. (2008), Evaluation of a new packing material for H₂S removed by biofiltration, *Biochemical Engineering Journal*, 42, pp.120-127.

Easter C., Quigley C., Burrowes P., Witherspoon J., Apgar D. (2005) Odor and air emissions control using biotechnology for both collection and wastewater treatment systems, *Chemical engineering journal*, 113, pp.93-104.

Egli, K., Langer, C., Siegrist, H.R., Zehnder, A.J.B., Wagner, M., Van der Meer, J.R. (2003), Community analysis of ammonia and nitrite oxidizers during a start-up of nitrification reactors, *Applied and Environmental Microbiology*, 69, pp.3213-3222.

Elias, A., Barona, A., Arreguy, A., Rios, J., Aranguiz, I., et Penas, J. (2002), Evaluation of a packing material for the biodegradation of H₂S and product analysis, *Process Biochemistry*, 37, pp.813-820.

Fanlo J.L. (1994), Transfert et transformation d'hydrogène sulfuré en réacteurs biotiques. Application à la désodorisation par biolavage et biofiltration, Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II, France, 183p.

Fanlo J.L. (2005), *Les procédés de traitement des émissions odorantes, Pollutions olfactives : Origine, Législation, Analyse, Traitement*, Dunod, Coll. L'Usine Nouvelle, pp.388.

Fanlo J.L., Carre J. (2006), Pollution olfactive, sources d'odeurs, cadre réglementaire, techniques de mesures et procédés de traitement. Etat de l'art, *Recherche coopérative sur les déchets et l'environnement*, Etude n°03-0808-0809/1A.

Fernandez, A., Hashsham, S.A., Dollhopf, S.L., Raskin, L., Glagoleva, O., Dazzo, F.B., Hickey, R.F., Criddle, C.S., Tiedje, J.M. (2000), Flexible community structure correlates with stable community function in methanogenic bioreactor communities perturbed by glucose, *Applied and Environmental Microbiology*, 66, pp.4058-4067.

Filho, J.L.R.P., Sader, L.T., Damianovic, M.H.R.Z., Foresti, E., Silva, E.L., (2010), Performance evaluation of packing materials in the removal of hydrogen sulfide in gas-phase biofilters : polyurethane foam, sugarcane bagasse, and coconut fibre, *Chemical Engineering Journal*, 158, pp.441-450.

Franklin, R. B., Mills, A.L. (2006), Structural and functional responses of a sewage microbial community to dilution-induced reductions in diversity, *Microbial Ecology*, 52, pp.280-288.

Friedrich, U., Naismith, M.M., Altendorf, K., et Lipski, A. (1999), Community analysis of biofilters using fluorescence in situ hybridization including a new probe for the *xanthomonas* branch of the class proteobacteria, *Applied and Environmental Microbiology*, 65, pp.3547-3554.

Gabriel, D., Maestre, J.P., Martin, L., Gamisans, X., Lafuente, J. (2007) Characterization and performance of coconut fiber as packing material in gas-phase biofilters, *Biosystems Engineering*, 97, pp.481-490.

Gadal-Mawart, A. (2012), Traitement d'effluent gazeux par biofiltration : Impact des caractéristiques physico-chimiques et hydrodynamiques du matériau support sur les performances et la structure de la communauté bactérienne totale au sein du réacteur, Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II, France, 159p.

Gaudin F., Andres, Y., et Le Cloirec, P. (2008), Packing material formulation for odorous emission biofiltration, *Chemosphere*, 70, pp.958-966.

Gentile, M., Jessup, C.M., Nyman, J. L., Criddle, C. S. (2007), Correlation of functional instability and community dynamics in denitrifying dispersed-growth reactors. *Applied and Environmental Microbiology*, 76, pp.680-690.

Guang-Hui Y.U., Xiao-Jun XU., Pin-Jing H.E. (2007), Isolates identification and characteristics of microorganisms in biotrickling filter and biofilter system treating H₂S and NH₃. *Journal of Environmental Sciences*, 19, pp.859-863.

Guillot J.M., Desauziers V., Avezac M., Roux J.C. (2000), Characterization and treatment of olfactory pollution emitted by wastewater in wineries of Mediterranean region, *Fresenius environment*, 9, pp. 243-250.

González C.R.N., Björklund E., Forteza R., Cerdà V. (2012), Volatile organic compounds in landfill odorant emissions on the island of Mallorca, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 16, 86-106.

Gould, W.D., Kanawaga, T. (1991), Purification and properties of methyl mercaptan oxidase from *Thiobacillus thioparus* TY-m, *Journal of General Microbiology*, 138, pp.217-221.

Govind, R., and Narayan, S. (2005), "Selection of bioreactor media for odor control". In *Biotechnology for odour and air pollution control*, Eds Shareefdeen Z. and A. Singh, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. pp 65-100.

Güde, H., Strohl, W.R., Larkin, J.M. (1981), Mixotrophic and heterotrophic growth of *Beggiatoa alba* in continuous culture, 129, pp.357-360.

Hamer G. (2003), Solid waste treatment and disposal : effects on public health and environmental safety, *Biotechnology advances*, 22, pp.71-79.

Haug R.T. (1993). The practical handbook of compost engineering, *Lewis Publishers*, 717p.

Herrygers V., Van Langenhove, H., Smet, E. (2000), Biological treatment of gases polluted by volatile sulfur compounds, *Environmental Technologies to Treat Sulfur Compounds*, IWA Publishin, London, pp.281-304.

Holley A. (1999), Les odeurs et la vie mentale, in *Eloge de l'odorat*, Odile Jacob, pp. 121-151.

Humeau P. et Le Cloirec P. (2010), Emissions gazeuses et traitement de l'air en compostage, Techniques de l'Ingénieur, G1925.

IFEN. (2006), L'environnement en France, Edition 2006, Institut Français de l'Environnement, 491p.

Iranpour R., Cox H.H.J, Deshusses M.A., Schroeder E.D. (2005), Literature review of air pollution control biofilters and biotrickling filters for odor and volatile organic compound removal, *Environmental progress*, 24, pp.254-267.

Ito, T., Miyaji, T., Nakagawa, T., Tomizuka, N. (2007) Degradation of dimethyl disulfide by *pseudomonas fluorescens* strain 76, *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 71, pp.366-370.

Jaubert J.N., Gordon G., Dore JC. (1987), Une organisation du champ des odeurs. Modèle descriptif de l'organisation de l'espace odorant, Parfums, Cosmétiques, Arômes, 78, pp. 71-82.

Jaubert J.N. (2005), Les odeurs dans l'air : de la pollution osmique à la gêne olfactive, Environnement, Risques et Santé, 4, pp.51-61.

Jeon S.Y., Choia M.B., Parka C.N., Wachsmann E.D., Songa S.J. (2011), High sulfur tolerance dual-functional cermet hydrogen separation membranes, *Journal of membrane science*, 382, pp.323-327.

Jiang, X., Luo, Y., Yan, R., Taya, J.H. (2009), Impact of substrates acclimation strategy on simultaneous biodegradation of hydrogen sulfide and ammonia, *Bioresource technology*, 100, pp.5707-5713.

Jin, Y., Veiga, M.C., Kennes, C. (2005), Autotrophic deodorization of hydrogen sulfide in a biotrickling filter, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 80, pp.998-1004.

Jones, K.D., Yadavalli, N., Karre, A.K., Paca, J. (2012), Microbial monitoring and performance evaluation for H₂S biological air emissions control at a wastewater lift station in South Texas, USA, *Journal of Environmental, Science and Health*, 47, pp.946-963.

Juteau, P., Larocque, R., Rho, D., LeDuy, A. (1999), Analysis of the relative abundance of different types of bacteria capable of toluene degradation in a compost biofilter, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 52, pp.863-868.

Kasakura, T.K., Tatsukawa, K. (1995), On the scent of good idea for odour removal, *WQI*, 2, pp.24-27.

Katayama-Fujimara, Y., Kuraishi, H. (1983), Emendation of *Thiobacillus perometabolis* London and Rittenberg 1967, 33, pp.650-651.

Kelly, D., Harrison, P. (1989), Genus *Thiobacillus* Beijerinck 1904b, 597AL, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 3, pp.1842-1858.

Kelly, D.P., Smith, N.A. (1990), Organic sulfur compounds in the environment, *Advances in microbial ecology*, 11, pp.345-385.

Kennes, C., and Thalasso, F. (1998). Waste gas biotreatment technology, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 72, pp.303-319.

Kennes C., Rene E.R., Veiga M.C. (2009), Bioprocess for air pollution control, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 84, pp.1419-1436.

Khammar, N., Malhautier, L., Degrange, V., Lensi, R., Godon, J.J., Fanlo, J.L. (2005), Link between spatial structure of bacterial communities and degradation of a complex mixture of volatile organic compounds in peat biofilters. *Journal of Applied Microbiology*, 98, pp.476-490.

Kholer. (1987), Biowäscher zur Minimierung von organischen gasförmigen Emissionen, *VDI-Verlag*, 561, pp.169-190.

Kim, N.J., Hirai, M., et Shoda, M. (2000), Comparison of organic and inorganic packing materials in the removal of ammonia gas in biofilters, *Journal of Hazardous Materials*, 72, pp.77-90.

Kim S., Deshusses M.A. (2005), Understanding the limits of H₂S degrading biotrickling filters using a differential biotrickling filter, *Chemical Engineering Journal*, 115, pp.119-126.

Kim D., Sorial G.A. (2007), Role of biological activity and biomass distribution in air biofilter performance, *Chemosphere*, 66, pp.1758-1764.

Kim, J.H., Rene, E.R., Park, H.S. (2008), Biological oxidation of hydrogen sulfide under steady and transient state conditions in an immobilized cell biofilter, *Bioresource Technology*, 99, pp.583-588.

Kozdroj, J., Van Elsas, J.D. (2000), Application of polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis for comparison of direct and indirect extraction methods of soil DNA used for microbial community fingerprinting, *Biology and Fertility of Soils*, 31, pp.372-378.

Kraakman, N.J.R. (2003) Robustness of a full-scale biological system treating industrial CS₂ emissions, *Environmental Progress*, 22 (2), 79-85.

Lafita, C., Penya-Roja, J.M., Sempere, F., Waalkens, A., Gabaldon, C. (2012), Hydrogen sulfide and odor removal by field-scale biotrickling filters: Influence of seasonal variations of load and temperature, Taylor & Francis, Philadelphia, PA, ETATS-UNIS, 47, pp.970-978.

- Lau A.K., Bruce M.P., Chase R.J.** (1996), Evaluating the performance of biofilters for composting odor control, *Journal of environmental science and health*, 31, pp. 2247-2273.
- Lazarova V., Manem J.** (1995) Biofilm characterization and activity analysis in water and wastewater treatment, *Water research*, 29, pp.2227-2245.
- Le Cloirec P.** (2003) Adsorption en traitement de l'air. *Techniques de l'ingénieur, Environnement*, G 1770.
- Le Cloirec P.** (2004), Introduction aux traitements de l'air. *Techniques de l'ingénieur, Environnement*, G 1770.
- Le Cloirec P., Faur C.** (2006), Adsorption of organic compounds onto activated carbon applications in water and air treatments, *Interface Science and Technology*, 7, pp.375-419.
- Lee, E.Y., Lee, N.Y., Cho, K.S., Ryu, H.W.** (2005), Removal of hydrogen sulfide by sulfate-resistant *Acidithiobacillus thiooxidans* AZ11. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101, pp.309-314.
- Lee, E.Y., Lee, N.Y., Cho, K.S., Ryu, H.W.** (2005), Simultaneous removal of H₂S and NH₃ in biofilter inoculated with *Acidithiobacillus thiooxidans* TAS. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 99, pp.611-615.
- Lee, T.H., Kim, J., Kim, M.J., Ryu, H.W., Cho, K.S.** (2006), Degradation characteristics of methyl ethyl ketone by *Pseudomonas* sp. KT-3 in liquid culture and biofilter, *Chemosphere*, 63, pp.315-322.
- Lee, E.H., Cho, K.S.** (2009), Effect of substrate interaction on the degradation of methyl tertbutyl ether, benzene, toluene, ethylbenzene, and xylene by *Rhodococcus* sp, *Journal of Hazardous Materials*, 167, pp.669-674.
- Legendre, P., Legendre, L.** (1998), Numerical ecology. 2nd English edition, *Elsevier Science BV*, Amsterdam. 853 p.
- Le Goallec O., Laplanche A., Martin G., Traineau N., Caille J.E.** (1991), Élimination préventive ou curative des sulfures en eaux usées par peroxyde d'hydrogène, *L'Eau, l'industrie, les nuisances*, 151, pp.49-55.
- Legrand P.** (2011), Traitement de composés soufrés organiques récalcitrants par biofiltration : optimisation des conditions opératoires pour une application industrielle, Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II, France, 194p.
- Leson, G., Smith, B.J.** (1997), Petroleum environmental research forum field study on biofilters for control of volatile hydrocarbons, American Society of Civil Engineers, Reston, VA, Etats-Unis, 123, pp.556-562.

Lestremau F. (2003), Développement d'une méthodologie analytique pour le dosage de composés soufrés malodorants dans différentes matrices environnementales, Thèse de Doctorat, Ecole doctorale des sciences exactes et de leurs applications, 168p.

Li, J., Ye, G., Sun, D., Sun, G., Zeng, X. (2011), Performances of two biotrickling filters in treating H₂S-containing waste gases and analysis of corresponding bacterial communities by pyrosequencing, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 95, pp.1633-1641.

Lozada, M., Basile, L., Erijman, L. (2007), Impact of non-ionic surfactant on the long-term development of lab-scale activated sludge bacterial communities, *Research in Microbiology*, 158, pp.712-717.

Luo, J., et Lindsey, S. (2006), The use of pine bark and natural zeolite as biofilter media to remove animal rendering process odours, *Bioresource Technology*, 97, pp.1461-1469.

Ma Y.L., Yang, B.L., Zhao, J.L. (2006), Removal of H₂S by thiobacillus denitrificans immobilized on different matrices, *Bioresource Technology*, 97, pp.2041-2046.

Maestre J. P., Gamisans, X., Gabriel, D., and Lafuente, J. (2007), Fungal biofilters for toluene biofiltration : Evaluation of the performance with four packing materials under different operating conditions. *Chemosphere*, 67, pp.684-692.

Malhautier, L., Gracian, C., Roux, J.C. (2003), Biological treatment process of air loaded with ammonia and hydrogen sulphide mixture, *Chemosphere*, 50, pp.145-153.

Malhautier L., Khammar N., Bayle S., Fanlo J.L. (2005), Biofiltration of volatile organic compounds, *Applied microbiology and biotechnology*, 68, pp.16-22.

Manero M.H., Roustan M. (1995), Etude comparative de divers procédés de traitement des effluents gazeux à faible concentration, *L'eau, l'industrie, les nuisances*, 85, 184p.

Mannucci, A., Munz, G., Mori, G., Lubello, C. (2012), Biomass accumulation modelling in a highly loaded biotrickling filter for hydrogen sulphide removal, *Chemosphere*, 88, pp.712-717.

Martin G., Laffort P. (1991), Odeurs et désodorisation dans l'environnement, *Lavoisier Tec & Doc*, Paris, pp 452.

Mathur, A.K., Majumder, C.B., et Chatterjee, S. (2007), Combined removal of BTEX in air stream by using mixture of sugar cane bagasse, compost and GAC as biofilter media, *Journal of Hazardous Materials*, 148, pp.64-74.

Mathur, A.K., Majumber, C.B. (2008), Biofiltration and kinetic aspects of a biotrickling filter for the removal of paint solvent mixture laden air stream, *Journal of Hazardous Materials*, 152, pp.1027-1036.

Mayrhofer S., T. Mikoviny, S. Waldhuber, A. O. Wagner, G. Innerebner, I. H. Franke-Whittle, T. D. Mark, A and H. Insam. (2006), Microbial community related to volatile organic compound (VOC) emission in household biowaste. *Environmental microbiology*, 8 (11), 1960-1974.

Mohseni, M., Grant Allen, D. (2000), Biofiltration of mixtures of hydrophilic and hydrophobic volatile organic compounds, *Chemical Engineering Science*, 55, pp.1545-1558.

Moller S., Pedersen A.R., Poulsen L.K., Arvin E., Molin S., (1996), Activity and threedimensional distribution of toluene-degrading *Pseudomonas putida* in a multispecies biofilm assessed by quantitative in situ hybridization and scanning confocal laser microscopy, *Applied and environmental microbiology*, 62, pp.4632-4640.

Morales, M., Hernandez, S., Cornabe, T., Revah S., and Auria, R. (2003), Effect of drying on biofilter performance : modeling and experimental approach, *Environmental science and technology*, 37 (5), pp.985-992.

Mudliar S., Giri B., Padoley K., Satpute D., Dixit R., Bhatt P., Pandey R., Juwarkar A., Vaidya A. (2010), Bioreactors for treatment of VOCs and odours : A review, *Journal of Environment Management*, 91, pp.1039-1054.

Muyzer, G., De Waal, E.C., Uitterlinden, A.G. (1993), Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA, *Applied and Environmental Microbiology*, 59, pp.695-700.

Nelson, D.C., Jannasch, H.W. (1983), Chemoautotrophic growth of a marine Beggiatoa in sulfide-gradient cultures, 136, pp.262-269.

Nicolas J., Romain A.C. et Delva J. (2008), Les odeurs dans l'environnement : dimensions sensorielles et méthodes d'évaluation, *Journal des Ingénieurs*, 109, pp.12-15.

Olguín-Lora, P., Le Borgne, S., Castorena-Cortés, G., Roldán-Carrillo, T., Zapata-Penasco, I., Reyes-Avila, J., Alcantara-Pérez, S. (2010), Evaluation of haloalkaliphilic sulfur-oxidizing microorganisms with potential application in the effluent treatment of the petroleum industry, *Biodegradation*, 22, pp.83-90.

Olsen, G.J., Woese, C.R. (1993), Ribosomal RNA: a key to phylogeny, *The FASEB Journal*, 7, pp.113-123.

Orwin, K.H., Wardle, D.A. (2004), New indices for quantifying the resistance and resilience of soil biota to exogenous disturbances, *Soil Biology and Biochemistry*, 36, pp.1907-1912.

Ottengraf, S.P.P. (1986). Exhaust gas purification. Biotechnology, a comprehensive Treatise, Rehm H. J., and Reed G., Eds., Verlag Chemie, Weinheim, 8, pp. 426-452.

Pagans E., Font X., Sanchez A. (2007), Coupling composting and biofiltration for ammonia and volatile organic compound removal, *Biosystems engineering*, 97, pp.491-500.

Parker T., Dottridge J., Kelly S. (2002). Investigation of the composition and emission of trace components in landfill gas. *R&D Technical Report, Environmental Agency*, P1-438/TR.

Pelmont J., (1993). Bactéries et environnement Adaptations physiologiques. Presses universitaires de Grenoble.

Pierrette M et Moch A. (2009), Etude des prédateurs de la gène olfactive aux abords d'un site industriel, *Psychologie Française*, 54, pp.259-270.

Pineda, R., Alba, J., Thalasso, F., et Ponce-Noyola, T. (2004), Microbial characterization of organic carrier colonization during a model biofiltration experiment, *Applied Microbiology*, 38, pp.522-526.

Pomeroy R.D. (1957), Deodorizing of gas streams by the use of microbial growths, US Patent, 2 793 096.

Pope D., Davis B.J., Moss R.L. (1980), Multistage absorption of rendering plant odours using sodium hypochlorite and other reagents, *Atmospheric environment*, 15, pp.251-262.

Pourtier L., Rognon C. (2000), Les odeurs dans l'environnement, Traité environnement, G 2900, *Techniques de l'Ingénieur*.

Prado, O., Veiga, M.C., and Kennes, C. (2005), Treatment of gas-phase methanol in conventional biofilters packed with lava rock, *Water Research*, 39, pp.2385-2393

Prado, O., Veiga, M.C., and Kennes, C. (2006), Effect of key parameters on the removal of formaldehyde and methanol in gas-phase biotrickling filters, *Journal of hazardous materials*, 138, pp.543-548.

Prado O.J., Gabriel D., Lafuente J. (2009), Economical assessment of the design, construction and operation of open-bed biofilters for waste gas treatment, *Journal of environmental management*, 90, pp.2515-2523.

Qi, B., Moe, W.M. (2006), Performance of low pH biofilters treating a paint solvent mixture: continuous and intermittent loading, *Journal of Hazardous Materials*, 135, pp.303-310.

Ramirez, M., Gomez, J.M., Aroca, G., Cantero, D. (2009), Removal of Hydrogen Sulphide by Immobilized Thiobacillus thioautotrophicus in a Biotrickling Filter Packed with Polyurethane Foam, *Bioresource Technology*, 100, pp.4489-4495.

Ramírez, M., Fernández, M., Granada, C., Le Borgne, S., Gómez, J.M., Cantero, D. (2012), Biofiltration of reduced sulphur compounds and community analysis of sulphur-oxidizing bacteria, *Bioresource Technology*, 102, pp.4047-4053.

Rappert S. et Müller R. (2005), Odor compounds in waste gas emissions from agricultural operations and food industries, *Waste Management*, 25, pp.887-907.

Rees, G. N., Baldwin, D.S., Watson, G.O., Perryman, S., Nielsen, D. L. (2004) Ordination and significance testing of microbial community composition derived from terminal restriction fragment length polymorphisms : application of multivariate statistics. *Antonie van Leeuwenhoek*, 86, pp.339-347.

Rehman, Z.U., Farooqi, I.H., Ayub, S. (2009), Performance of biofilter for the removal of hydrogen sulphide odour, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 3, pp.537-544.

Reichert, K., Lipski, A., Pradella, S., Stackebrandt, E., Altentorf, A. (1998), *Pseudonocardia asaccharolytica* sp. Nov. and *Pseudonocardia sulfidoxydans* sp. Nov., two new dimethyldisulfide-degrading actinomycetes and emended description of the genus *Pseudonocardia*, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 48, pp.441-449.

Rene, E.R., Veiga, M.C., Kennes, C. (2009), Performance of a biofilter for the removal of high concentrations of styrene under steady and non-steady state conditions, *Journal of Hazardous Materials*, 168, pp.282- 290.

Rosenfeld P. E., Suffet I.H. (2004). Understanding odorants associated with compost, biomass facilities and the land application of biosolids. *Water science and technology*, 49, pp.193-199.

Roustan M., Lens P.N.L., Kennes C., Le Cloirec P., Deshusses M. (2006), Wet scrubbing for the removal of NH₃ from waste gas. *In waste gas treatment for resource recovery*, IWA Publishing, London, UK. 305-319.

Rozec V., Dubois N., Bonnefoy B., Moch A et Maramotti I. (2003), Nuisances olfactives et pollution de l'air : les plaintes des Parisiens, *Pollution atmosphérique*, 45, pp.523-537.

Ruokojavi, A., Ruuskanen, J., Martikainen, P.J., Olkkonen, M. (2001), Oxidation of gas mixtures containing dimethyl sulfide, hydrogen sulfide, and methanethiol using two-stage biotrickling filter, *Journal of the Air and Waste Management Association*, 51, pp.11-16.

Sabo, F., Motz, U., Fisher, K. (1993). Development and testing of high efficiency biofilters. Proceedings of the 86th annual meeting & exhibition of the Air & Waste Management Association, Denver.

Sakuma, T., Hattori, T. et Deshusses, M.A. (2006), Comparison of different packing materials for the biofiltration of air toxics, *Journal of the Air and Waste Management Association*, 56, pp.1567-1575.

Sander, R. (1999), Compilation of Henry's Law Constants for Inorganic and Organic Species of Potential Importance in Environmental Chemistry, Air Chemistry Department, Germany, 107p.

Santos, P. M., Blatny, J.M., Di Bartolo, I., Valla, S., Zennaro, E. (2000), Physiological analysis of the expression of the styrene degradation gene cluster in *Pseudomonas fluorescens* ST. *Applied and environmental microbiology*, 66, pp.1305-1310.

Santos S., Jones K., Abdul R., Boswell J., Paca J. (2007), Treatment of wet process hardboard plant VOC emissions by a pilot scale biological system, *Biochemical engineering journal*, 37, pp.261-270.

Schaal B. (1988), Olfaction in infants and children : developmental and functional perspectives, *Chemical Senses*, 13, pp. 145-190.

Schäfer, H. (2007), Isolation of *Methylophaga* spp. From marine dimethylsulfide-degrading enrichment cultures and identification of polypeptides induced during growth on dimethylsulfide, *Applied and Environmental Microbiology*, 73, pp.2580-2591.

Schäfer H., Myronova N. et Boden R. (2010), Microbial degradation of dimethylsulfide and related C1-sulfur compounds: organisms and pathways controlling fluxes of sulfur in the biosphere, *Journal of Experimental Botany*, 61, pp.315-334.

Schuhfried, E., Biasioli, F., Aprea, E., Cappellin, L., Soukoulis, C., Ferrigno, A., Märk, T.D., Gasperi, F. (2011), PTR-MS measurements and analysis of models for the calculation of Henry's law constants of monosulfides and disulfides, *Chemosphere*, 83, pp.313-317.

Schulz T.J. (2009), Biofiltration Full scale applications : challenges and solutions. Proceedings of the 3rd Congress on Biotechniques for Air Pollution Control, Delft, The Netherlands, 28-30/09/2009, Eds: Bartacek J. and P. N. L. Lens., pp 83-84.

Scriban, R. (1993), Biotechnologie. 4^{ème} édition. Tec & Doc Lavoisier. Paris.

Sempere, F., Gabaldon, C., Martinez-Soria, V., Marzal, P., Penya-Roja, J.M., Alvarez-Hornos, F.J. (2008), Performance evaluation of a biotrickling filter treating a mixture of oxygenated VOCs during intermittent loading, *Chemosphere*, 73, pp.1533-1539.

Sercu, B., Nunez, D., Aroca, G., Boon, N., Verstraete, W., and Van Langenhove, H. (2005) Inoculation and start up of a biotrickling filter removing dimethyl sulphide, *Chemical Engineering Journal*, 113, pp.127-134.

Sercu, B., Nunez, D., Van Langenhove, H., Aroca, G., and Verstraete, W. (2005), Operational and microbiological aspects of a bioaugmented two-stage biotrickling filter removing hydrogen sulphide and dimethyl sulphide, *Biotechnology and bioengineering*, 90, pp.259-269.

Sercu, B., Boon, N., Verstraete, W., Van Langenhove, H. (2006), H₂S degradation is reflected by both the activity and composition of the microbial community in a compost biofilter, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 72, pp.1090-1098.

Shareefdeen, Z., Herner, B., Webb, D., Verhaeghe L., and Wilson, S. (2005), An odor predictive model for rendering applications, *Chemical engineering journal*, 113, pp.215-220.

Sheridan B.A., Hayes E.T., Curran T.P. et Dodd V.A. (2004), A dispersion modelling approach to determining the odour impact of intensive pig production units in Ireland, *Bioresource Technology*, 91, pp.145-152.

Shinabe, K., Oketani, S., Ochi, T., Matsumura, M. (1995), Characteristics of hydrogen sulfide removal by *Thiobacillus thiooxidans* KS1 isolated from a carrier-packed biological deodorization system, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 80, pp.592-598.

Smet, E., Van Langenhove, H., Verstraete, W. (1997), Isobutyraldehyde as a competitor of the dimethylsulfide degrading activity in biofilters, *Biodegradation*, 8, pp.53-59.

Smet, E., Van Langenhove H. (1998), Abatement of volatile organic sulfur compounds in odorous emissions from the bio-industry, *Biodegradation*, 9, pp.273-284.

- Smet, E., Van Langenhove H. and De Bo, I.** (1999), The emissions of volatile compounds during the aerobic and the combined anaerobic/aerobic composting of biowaste, *Atmospheric environment*, 33, pp.1295-1303.
- Smith, N. A., Kelly, D.P.** (1998), Mechanism of oxidation of dimethyl disulphide by *Thiobacillus thioparus* strain E6, *Journal of General Microbiology*, 134, pp.3031-3039.
- Song J.H., Kinney K.A.** (2000), Effect of vapor-phase bioreactor operation on biomass accumulation, distribution, and activity : Linking biofilm properties to bioreactor performance, *Biotechnology and bioengineering*, 68, pp.508-516.
- Song, J.H., Ramirez, J., Kinney, K.A.,** (2003), Nitrogen utilization in a vapor-phase biofilter, *Water Research*, 37, pp.4497-4505.
- Soupramanien, A., Malhautier, L., Dumont, E., Andrès, Y., Rocher, J., Fanlo, J.** (2012), Biological treatment of a mixture of gaseous sulphur reduced compounds: identification of the total bacterial community's structure, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 87, pp.817-823.
- Steele, J.A., Ozis, F., Fuhrman, J.A., et Devinny, J.S.** (2005), Structure of microbial communities in ethanol biofilters, *Chemical Engineering Journal*, 113, pp.135-143.
- Stein M., Ottemberg P., Roulet H.** (1958), A study of the development of olfactory preferences, *Archives of neurology and psychiatry*, 80, pp. 264-266.
- Stevens S.S.** (1936), A scale for measurement of a psychological magnitude loudness, *Psychological review*, 43, pp. 405-416.
- Stoffels, M., Amann, R., Ludwig, W., Hekmat, D., Schleifer, K.H.** (1998), Bacterial community dynamics during start-up of a trickle-bed bioreactor degrading aromatic compounds, *Applied and Environmental Microbiology*, 64, pp.930-939.
- Strickland, M.S., Lauber, C., Fierer, N., Bradford, M.A.** (2009), Testing the functional significance of microbial community composition, *Ecology*, 90, pp.441-451.
- Sun, Y., Quan, X., Chen, J., Yang, F., Xue, D., Liu, Y., et Yang, Z.** (2002), Toluene vapour degradation and microbial community in biofilter at various moisture content, *Process Biochemistry*, 38, pp.109-113.
- Syed, M., Soreanu, G., Falletta, P., Beland, M.** (2006) Removal of hydrogen sulfide from gas streams using biological processes : A review, *Canadian Biosystems Engineering*, 48, pp.1-14.
- Tang, K., Baskaran, V., Nemati, M.** (2008), Bacteria of the Sulphur Cycle: An overview of microbiology, biokinetics and their role in petroleum and mining industries, *Biochemical Engineering Journal*, 44, pp.73-94.

Thalasso F., Naveau H., Nyns E.J. (1995), Design and performance of a bioreactor equipped with a Venturi injector for high gas transfer rates, *Journal and the Biochemical Engineering Journal*, 57, pp. 1-5.

Thompson, D., Sterne, L., Bell, J., Parker, W., Lye, A. (1996). Pilot scale investigation of sustainable BTEX removal with a compost biofilter. Proceeding of the 89th Annual meeting & exhibition of the Air & Waste Management Association, Nashville.

Tresse, O., Lorrain, M.J., Rho, D. (2002), Population dynamics of free-floating and attached bacteria in a styrene-degrading biotrickling filter analyzed by denaturing gradient gel electrophoresis, *Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 59, pp.585-590.

Tresse O., Lescob S., Rho D. (2003), Dynamics of living and dead bacterial cells within a mixedspecies biofilm during toluene degradation in a biotrickling filter, *Journal of Applied Microbiology*, 94, pp.849-855.

Tsang Y.F., Chua H., Sin S.N. (2008), Treatment of odorous volatile fatty acids using a biotrickling filter, *Bioresource Technology*, 99, pp.589-595.

Van Groenestijn J.W., and Hesselink P.G.M. (1993), Biotechniques for air pollution control, *Biodegradation*, 4, pp.283-301.

Van Groenestijn J.W., Kraakman N.J.R. (2005), Recent developments in biological waste gas purification in Europe. *Chemical engineering journal*, 113, pp.85-91.

Visscher, P.T., Taylor, B.F. (1993), Aerobic and anaerobic degradation of a range of alkyl sulfides by a denitrifying marine bacterium, *Applied and Environmental Microbiology*, 59, pp.4083-4089.

Waltrip G.D., Snyder E.G. (1985), Elimination of Odor at Six Major Wastewater Treatment Plants, *Water environment federation*, 57, pp.1027-1032.

Wani, A.H., Branion, R.M.R., et Lau, A.K. (1998), Effects of periods of starvation and fluctuating hydrogen sulfide concentration on biofilter dynamics and performance, *Journal of Hazardous Materials*, 60, pp.287-303.

Zhang, L., Hirai, M., Shoda, M. (1991), Removal characteristics of dimethylsulfide, methanethiol and hydrogen sulfide by *Hyphomicrobium* sp. I55 isolated from peat biofilter, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 72, pp.392-396.

Zhang, Y., Liss, S.N., Allen, G.D. (2007), Effect of methanol on pH and stability of inorganic biofilters treating dimethyl sulphide, *Environmental Science and Technology*, 41, pp.3752-3757.

Annexes

Annexe 1 : Composition du milieu nutritif HCMM3 (Chapitre 2)

- Solution A

	<u>Solution 10 X</u>	<u>Concentration finale visée</u>	
KH_2PO_4	13,6 g.L ⁻¹	1,36 g.L ⁻¹	10,0 mM
Na_2HPO_4	14,2 g.L ⁻¹	1,42 g.L ⁻¹	10,0 mM
KNO_3	5,1 g.L ⁻¹	0,51 g.L ⁻¹	5,0 mM
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	23,8 g.L ⁻¹	2,38 g.L ⁻¹	18,0 mM

- Solution B

	<u>Solution 100 X</u>	<u>Concentration finale visée</u>	
$\text{MgSO}_4(7\text{H}_2\text{O})$	5,0 g.L ⁻¹	0,05 g.L ⁻¹	0,20 mM

- Solution C

	<u>Solution 100 X</u>	<u>Concentration finale visée</u>	
$\text{CaCl}_2(2\text{H}_2\text{O})$	1,5 g.L ⁻¹	15 mg.L ⁻¹	0,10 mM

- **Solution D**

	<u>Solution 1000 X</u>	<u>Concentration finale visée</u>	
Fe(NH₄)₂(SO₄)₂(7H₂O)	3,53 g.L ⁻¹	3,53 mg.L ⁻¹	9,00 µM
HCl conc. (38%)	19,0 g.L ⁻¹	19,0 mg.L ⁻¹	0,52 mM

- **Solution E**

	<u>Solution 1000 X</u>	<u>Concentration finale visée</u>	
H₃BO₃	2,86 g.L ⁻¹	2,86 mg.L ⁻¹	46,2 µM
MnSO₄(H₂O)	1,54 g.L ⁻¹	1,54 mg.L ⁻¹	9,11 µM
CuSO₄	2,5 mg.L ⁻¹	2,5 µg.L ⁻¹	0,016 µM
ZnCl₂	2,1 mg.L ⁻¹	2,1 µg.L ⁻¹	0,015 µM
CoCl₂(6H₂O)	4,1 mg.L ⁻¹	4,1 µg.L ⁻¹	0,017 µM
Na₂MoO₄(2H₂O)	2,5 mg.L ⁻¹	2,5 µg.L ⁻¹	0,010 µM
HCl conc. (38%)	19,0 g.L ⁻¹	19,0 mg.L ⁻¹	0,52 µM

Annexe 2 : Courbes d'étalonnage de l'hydrogène sulfuré (H_2S), du diméthylsulfure (DMS) et du diméthyldisulfure (DMDS) par chromatographie en phase gazeuse (Chapitre 2)

Les figures 1, 2 et 3 présentent les courbes d'étalonnage de l' H_2S obtenues par chromatographie en phase gazeuse équipée d'un détecteur à photo-ionisation (PID) (HNU Systems Model 311, Newton, MA, USA) et celles du DMS et DMDS obtenues par chromatographie en phase gazeuse équipée d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) (Trace, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA).

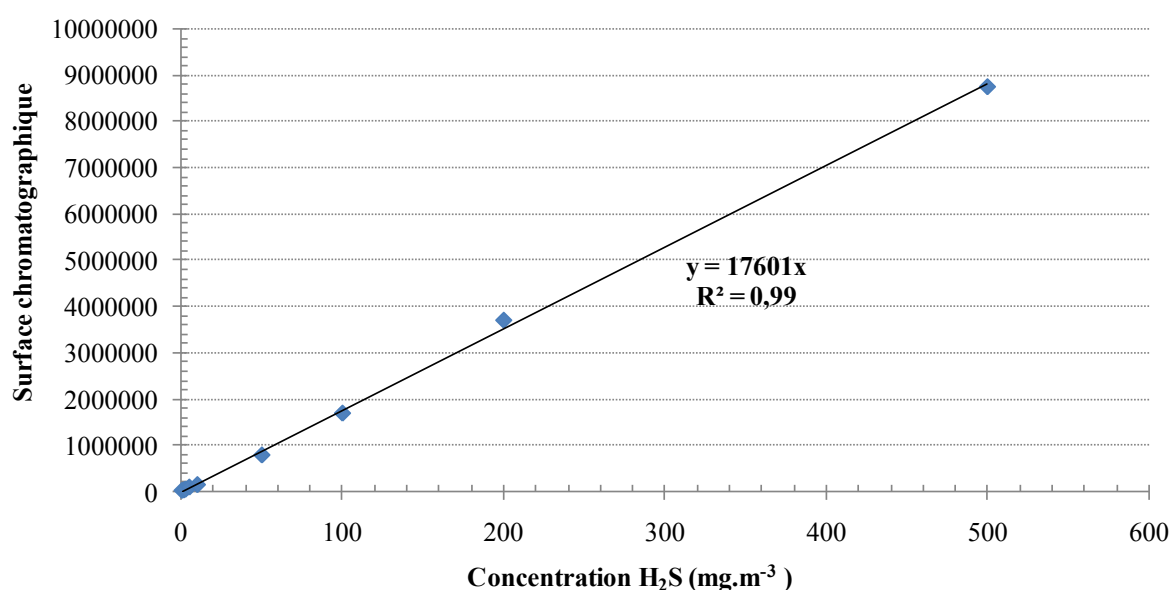


Figure 1 : Courbe d'étalonnage de l' H_2S .

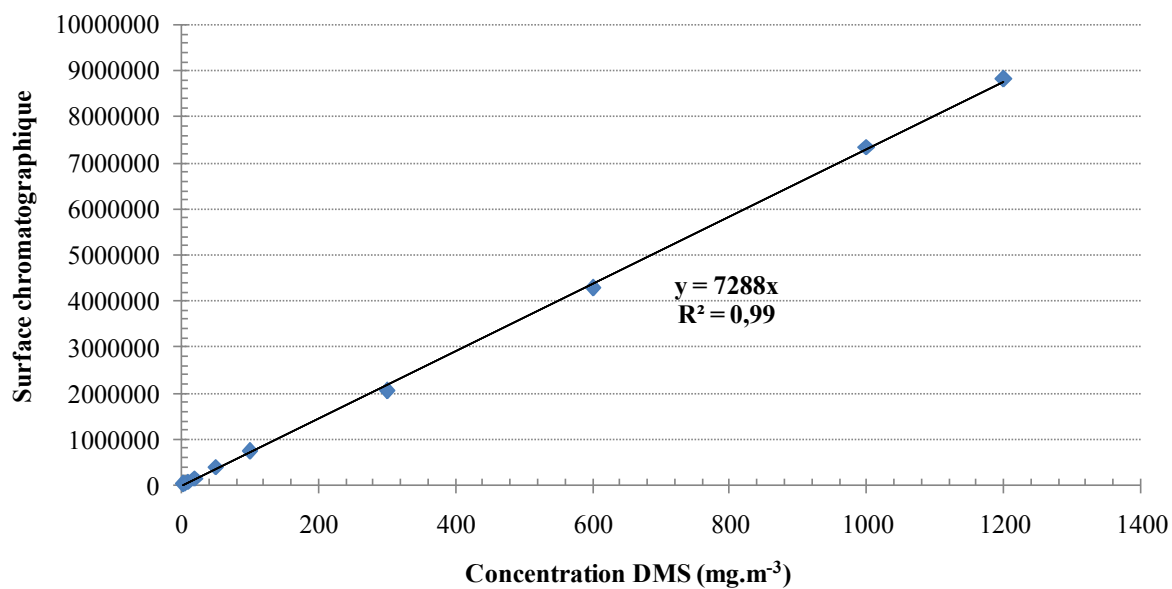


Figure 2 : Courbe d'étalonnage du DMS.

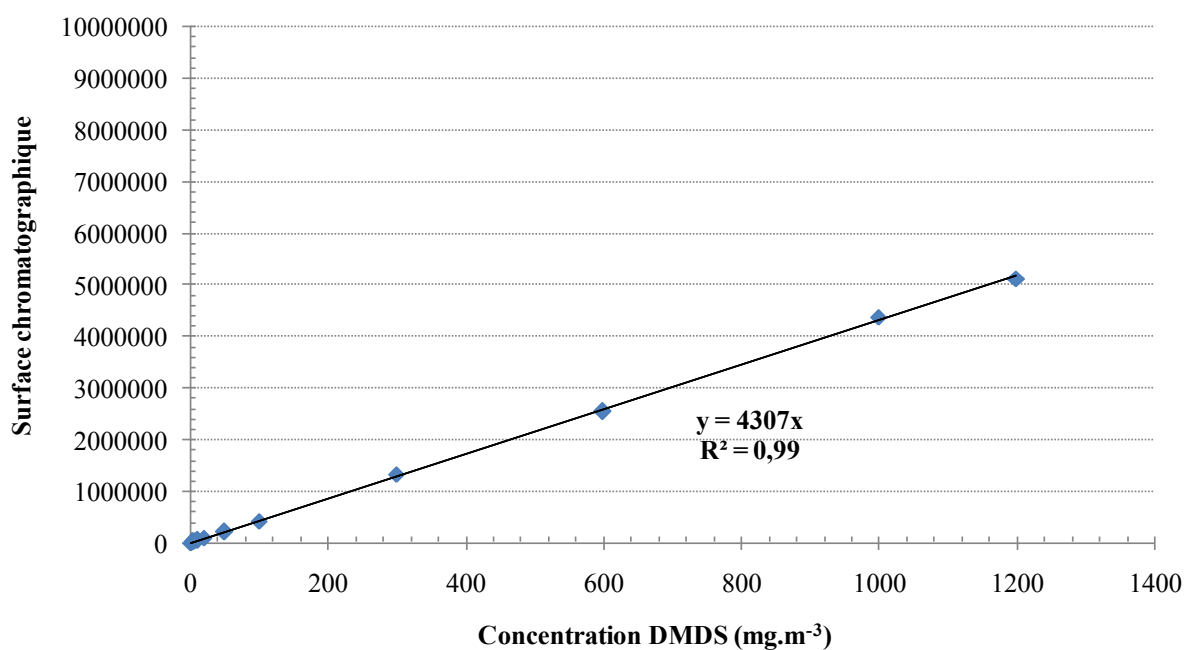
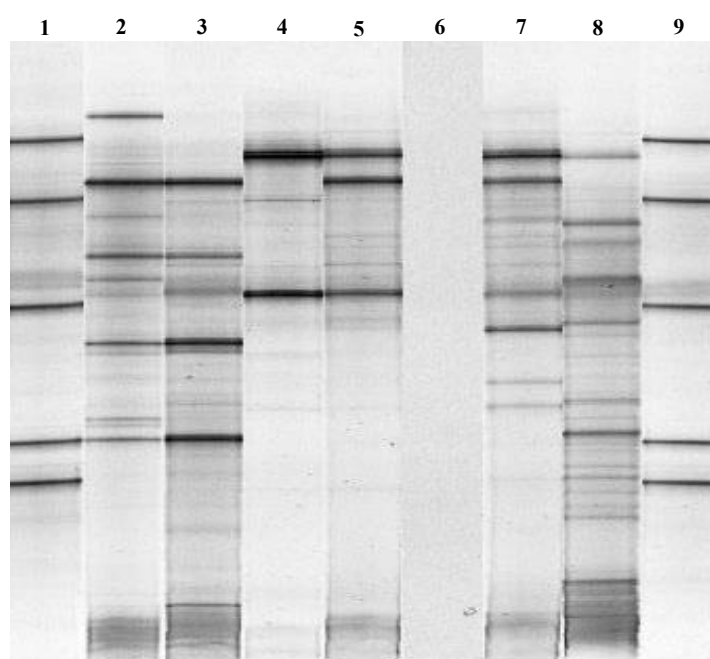


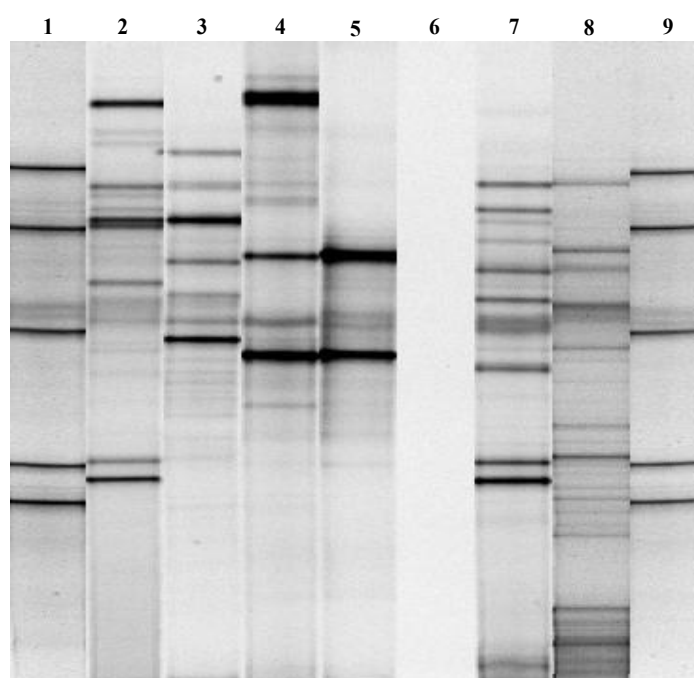
Figure 3 : Courbe d'étalonnage du DMDS.

**Annexe 3 : Structure de la communauté bactérienne totale,
obtenue par PCR-DGGE, au sein des différents
microcosmes (expériences E1.1 ; E1.2 ; E2.1
(Chapitre 2)**

Expérience E1.1



Expérience E1.2



Expérience E2.1

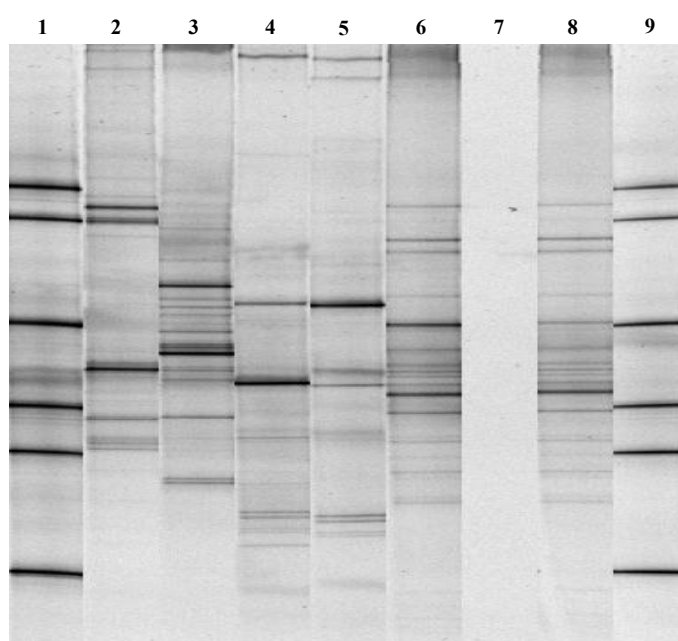
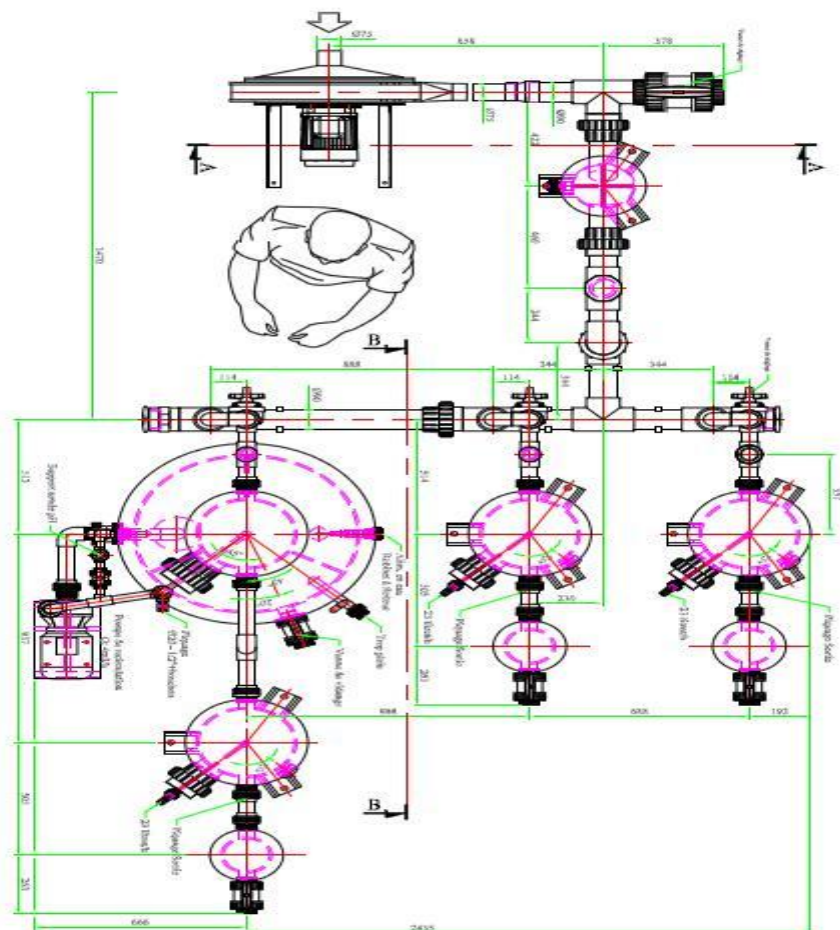


Figure 4 : Structure de la communauté bactérienne totale, obtenue par PCR-DGGE, des microcosmes : ; (2) pH 7 ; (3) pH 5 ; (4) pH 3 ; (5) pH 1 ; (6) contrôle 1 ; (7) contrôle 2 ; (8) Inoculum ; (1, 9) Standard.

**Détail pompe de recirculation
HMP N 20/75**





A. Soupramanien — Thèse ED SPIGA — Nantes/Alès — 2012

Annexe 5 : Test de génération de l'effluent gazeux synthétique alimentant les biofiltres dupliquats et le couplage filtre percolateur/biofiltre (Chapitre 3)

La figure 4 présente, l'évolution de la concentration de l' H_2S , DMS et DMDS en fonction du temps. Les mesures ont été effectuées toutes les 10 min pendant 48 heures en entrée de chaque unité pilote.

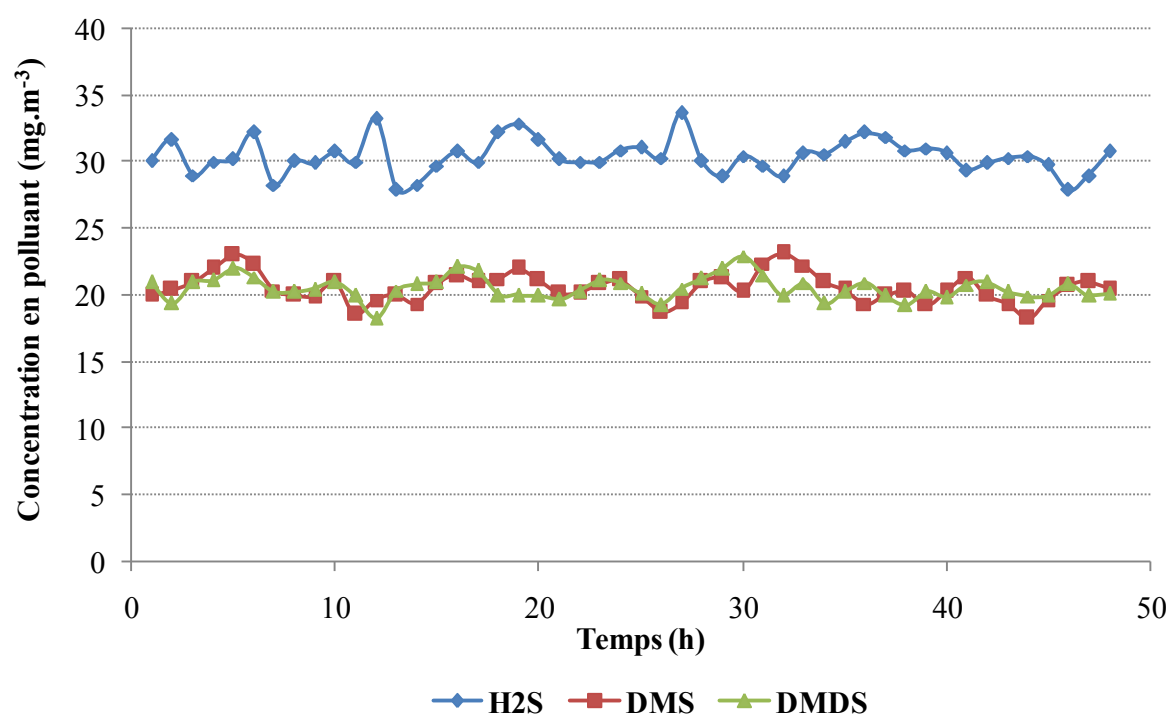


Figure 6 : Evolution de la concentration des différents composés soufrés contenus dans l'effluent gazeux synthétique en fonction du temps.

Annexe 6 : Composition de la solution nutritive (Chapitre 3)

Les caractéristiques de l'engrais utilisé sont détaillées dans le **tableau 1**.

Tableau 1 : Composition de l'engrais utilisé comme solution nutritive (Optiplan, Duclos International, Lunel, France).

Composés	Pourcentage massique de chaque composé (%)
Azote nitrique	10
Azote ammoniacal	12,2
Azote urique	1,8
Anhydride phosphorique	20
Oxyde de potassium	2
Oxyde de magnésium	2
Anhydride sulfurique	4
Bore	0,0125
Cuivre	0,0025
Manganèse	0,0125
Molybdène	0,0012
Zinc	0,010
Fer	0,03

La solution nutritive est obtenue par dilution de l'engrais dans de l'eau à une concentration de 42 mg.L⁻¹ afin d'appliquer, *via* l'arrosage, un apport en nutriments respectant le ratio C/N/P de 100/10/1. Les calculs qui ont permis de déterminer cette concentration sont détaillés ci-dessous.

Le **tableau 2** présente les données qui ont permis de déterminer l'équivalent carbone du mélange.

Tableau 2 : Equivalent carbone de l'effluent gazeux synthétique.

Composés	Concentration dans le mélange (mg.m ⁻³)	Masse molaire (g.mol ⁻¹)	Nombre de moles pour 100 mg	Nombres de carbones	Equivalent carbone	Masse de carbone équivalente (g)	Masse de C équivalente dans le mélange (g de C.m ⁻³)
H ₂ S	30	34	$2,9.10^{-3}$	0	0	0	0
DMS	20	62	$1,6.10^{-3}$	2	$3,2.10^{-3}$	$3,8.10^{-2}$	$7,7.10^{-3}$
DMDS	20	94	$1,1.10^{-3}$	2	$2,2.10^{-3}$	$2,6.10^{-2}$	$5,2.10^{-3}$

- ✓ L'équivalent carbone du mélange est de 12,9 mg de C.m⁻³ d'air. En considérant le débit appliqué (7 m³.h⁻¹), la quantité de carbone à dégrader est de 2,17 g de C.j⁻¹. D'après le rapport C/N/P, il faut donc apporter 0,22 g de N.j⁻¹ et 0,022 g de P.j⁻¹.
- ✓ Le phosphore étant en excès dans l'engrais utilisé, selon le rapport N/P choisi, la concentration nécessaire d'engrais sera donc calculée sur la base de la quantité d'azote à apporter.
- ✓ L'apport de solution nutritive est de 40 L.col⁻¹.j⁻¹ à un débit de 20 L.h⁻¹.m⁻³ de matériau. La concentration en azote de la solution nutritive doit donc être de 10,8 mg N.L⁻¹ pour permettre l'apport de la quantité d'azote journalière nécessaire.
- ✓ L'engrais étant constitué d'azote à 24%, il est donc nécessaire de diluer 45 mg.L⁻¹ d'engrais pour obtenir une solution nutritive à 10,8 mg.L⁻¹ d'azote.

Annexe 7 : Courbes d'étalonnage de l'hydrogène sulfuré (H₂S), du diméthylsulfure (DMS) et du diméthylldisulfure (DMDS) par chromatographie en phase gazeuse (Chapitre 3)

Les figures 7, 8 et 9 présentent, les courbes d'étalonnage de l'H₂S, du DMS et du DMDS, obtenues par chromatographie en phase gazeuse (Varian CP-3800) équipé d'un détecteur à photométrie de flamme pulsée (GC-PFPD).

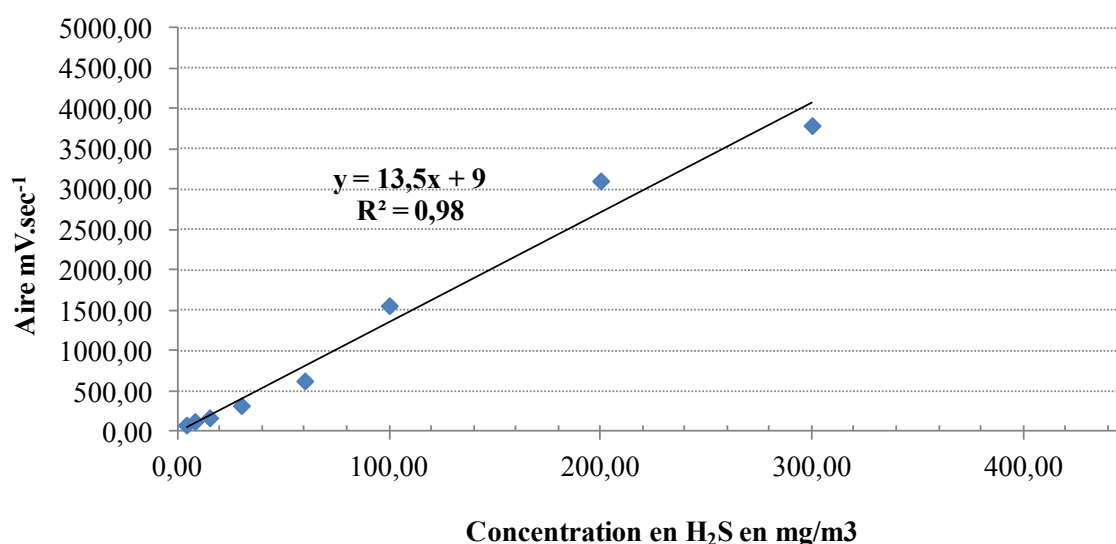


Figure 7 : Courbe d'étalonnage de l'H₂S.

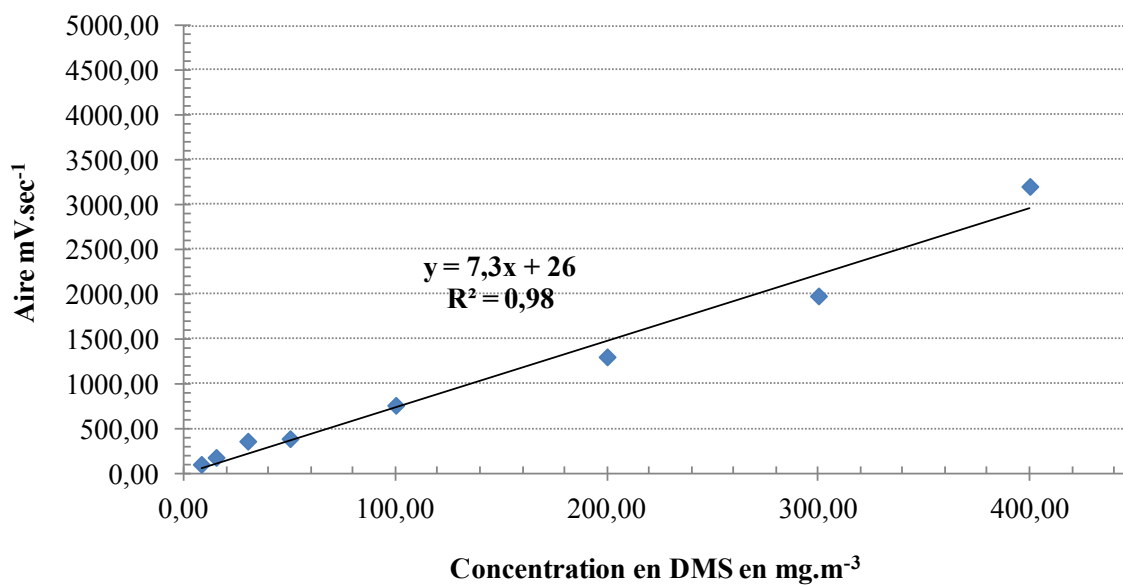


Figure 8 : Courbe d'étalonnage du DMS.

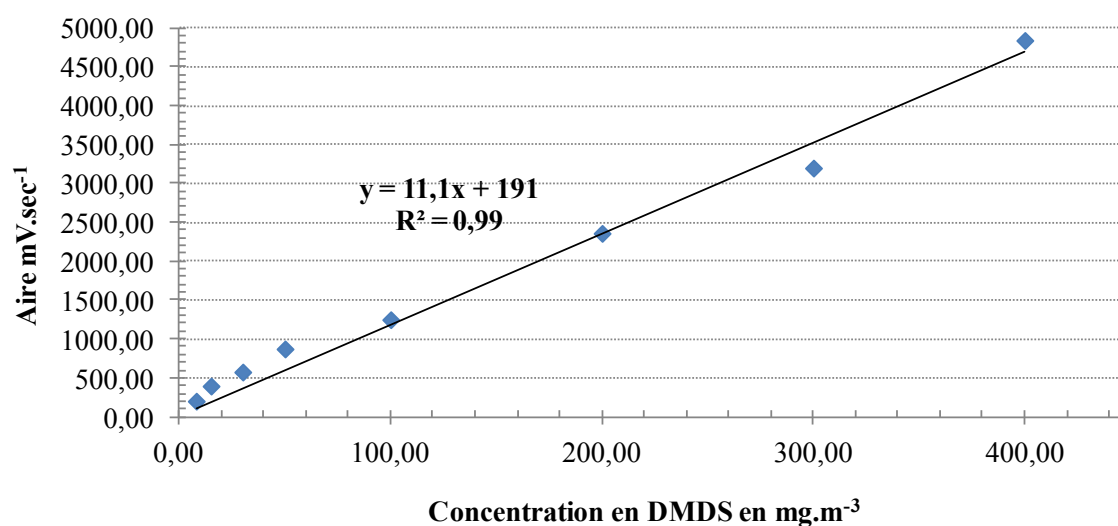


Figure 9 : Courbe d'étalonnage du DMDS.

Annexe 8 : Détails du calcul en bilan soufre (Chapitre 3)

Le bilan soufre sur les biofiltres BFA et BFB, et sur le couplage FP/BFC a été réalisé à l'état stationnaire (entre $t = 82$ et $t = 100$ jour) en considérant le ratio massique de la quantité de soufre entrante sous forme H_2S , DMS et DMDS à l'état gazeux par rapport à la quantité de soufre sous forme de sulfate dans la phase aqueuse et de composés soufrés à l'état gazeux non consommé. Le détail du calcul est décrit comme suit :

Equation 1 (g_{polluant}/j) :

$$\text{Quantité de polluant}_{\text{entrant}/j} = \frac{[\text{polluant}]}{1000} * 7 (\text{Débit d'air en } mg.m^{-3}) * 24 / \frac{M_s}{M_{\text{polluant}}}$$

Equation 2 ($g_{s\text{-polluant}}/j$) :

$$\text{Quantité de polluant}_{\text{sortant}/j} = \frac{[\text{polluant}]}{1000} \times (1 - \text{Abattement } (\%)) \times 7 \times 24 / \frac{M_s}{M_{\text{polluant}}}$$

Equation 3 ($g_{s\text{-sulfates}}/j$) :

$$\text{Quantité de } S_{\text{sulfates produit}/j} = \frac{[SO_4^{2-}]_{\text{mesurée}}}{1000} \times Vol_{\text{percolatrecueilli}/j} \times \frac{M_s}{M_{\text{polluant}}}$$

Equation 4 (%) :

$$Eq4 = \frac{Eq1 - (Eq2 + Eq3)}{Eq1}$$

Les valeurs d'erreur (%) concernant le bilan soufre sont données dans le tableau 2 pour BFA, BFB et FP/BFC. Le bilan a été calculé à l'état stationnaire sur une période de 18 jours (entre $t = 82$ et $t = 100$ jour).

Tableau 3 : Récapitulatif du bilan soufre pour les BFA et BFB et le couplage FP/BFC.

BFA			
Quantité de S-H ₂ Sg entrant (g de S)	90	Quantité de S-H ₂ S sortant (g de S)	0
Quantité de S-DMSg entrant (g de S)	31,2	Quantité de S-DMS sortant (g de S)	10,6
Quantité de S-DMDSg entrant (g de S)	20,6	Quantité de S-DMDS sortant (g de S)	4,7
Total (g)	141,8	Quantité de S-sulfates produit (g de S)	125,9
		Total (g)	141,3
Erreur (%)			
0,4			

BFB			
Quantité de S-H ₂ Sg entrant (g de S)	90	Quantité de S-H ₂ S sortant (g de S)	0
Quantité de S-DMSg entrant (g de S)	31,2	Quantité de S-DMS sortant (g de S)	10,6
Quantité de S-DMDSg entrant (g de S)	20,6	Quantité de S-DMDS sortant (g de S)	3,5
Total (g)	141,8	Quantité de S-sulfates produit (g de S)	128,7
		Total (g)	141,3
Erreur (%)			
-0,7			

FP

Quantité de S-H ₂ Sg entrant (g de S)	90	Quantité de S-H ₂ S sortant (g de S)	0
Quantité de S-DMSG entrant (g de S)	31,2	Quantité de S-DMS sortant (g de S)	31,2
Quantité de S-DMDSg entrant (g de S)	20,6	Quantité de S-DMDS sortant (g de S)	20,6
Total (g)	141,8	Quantité de S-sulfates produit (g de S)	116
		Total (g)	167,8
Erreur (%)			
-18,3			

BFC			
Quantité de S-H ₂ Sg entrant (g de S)	0	Quantité de S-H ₂ S sortant (g de S)	0
Quantité de S-DMSG entrant (g de S)	31,2	Quantité de S-DMS sortant (g de S)	5,9
Quantité de S-DMDSg entrant (g de S)	20,6	Quantité de S-DMDS sortant (g de S)	0
Total (g)	51,8	Quantité de S-sulfates produit (g de S)	46
		Total	51,9
Erreur (%)			
-0,7			

Annexe 9 : Comparaison des profils DGGE obtenus à partir d'échantillons de matériaux prélevés au sein de BFA, BFB et BFC

(Chapitre 4)

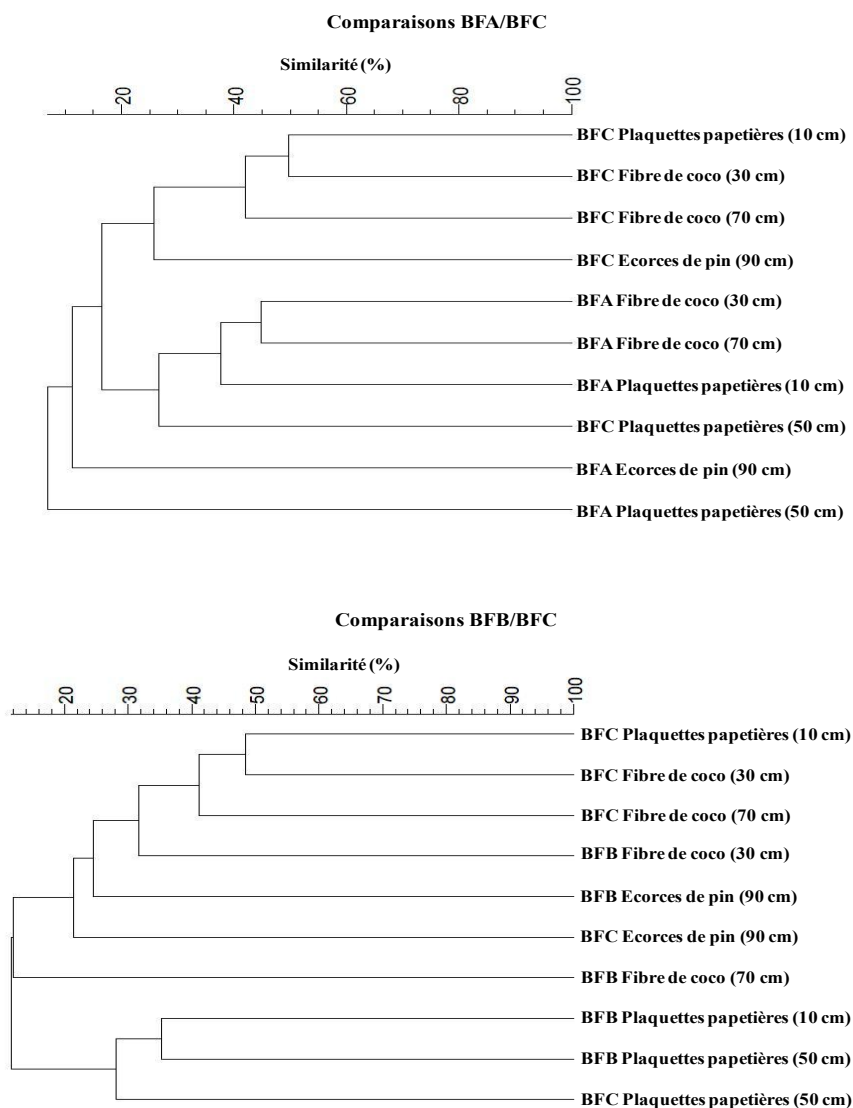


Figure 10 : Représentation de la structure des communautés au sein des biofiltres BFA et BFB et BFC garnis de plaquettes papetières (10 et 30 cm) ; fibre de coco (50 et 70 cm) et écorces de pin (90 cm). Clustérisation basée sur l'analyse des positions et des intensités relatives des bandes détectées sur profil DGGE. Le dendrogramme est construit selon la méthode UPGMA à partir de la matrice des similarités calculées par l'indice de Bray-Curtis.

Annexe 10 : Analyses par qPCR de la densité de peuplement de la communauté bactérienne totale ainsi que la population de *Thiobacillus thioparus* au sein des biofiltres BFA, BFB et BFC

(Chapitre 4)

Les densités de peuplement de la communauté bactérienne totale et de la population de *Thiobacillus thioparus* sur 10, 50 et 90 cm hauteur de colonne pour BFA, BFB et BFC sont présentées dans les tableaux 4 et 5.

Tableau 4 : Nombre de copies de la communauté bactérienne totale par ng d'ADN extrait durant l'état stationnaire ES2 et à l'issue du dernier choc de concentration C5 en fonction de la hauteur de colonne, à partir des échantillons de matériaux prélevés au sein des biofiltres BFA et BFB et BFC. ND : non détecté.

Biofiltre	Etat	10 cm	50 cm	90 cm
BFA	ES2	5,3E+06 ± 1,0E+06	4,5E+06 ± 1,5E+06	4,0E+06 ± 0,8E+06
	C5	2,7E+06 ± 3,2E+05	5,2E+06 ± 1,9E+06	9,2E+06 ± 3,4E+05
BFB	ES2	4,0E+06 ± 0,1E+06	3,6E+06 ± 2,1E+05	3,4E+06 ± 1,4E+05
	C5	5,4E+06 ± 1,1E+05	1,5E+07 ± 3,9E+06	8,6E+06 ± 4,4E+05
BFC	ES2	6,2E+06 ± 1,7E+06	ND	ND
	C5	1,9E+07 ± 0,4E+06	2,0E+07 ± 2,7E+06	1,1E+07 ± 8,7E+06

Tableau 5 : Nombre de copies de la population de *Thiobacillus thioparus* par ng d'ADN extrait durant l'état stationnaire ES2 et le dernier choc de concentration C5 en fonction de la hauteur de colonne, à partir des échantillons des biofiltres BFA et BFB et BFC.

Biofiltre	Etat	10 cm	50 cm	90 cm
BFA	ES2	6,7E+01 ± 0,4E+01	5,2E+03 ± 1,1E+02	1,7E+05 ± 3,3E+04
	C5	3,8E+02 ± 0,7E+02	9,9E+03 ± 3,9E+02	3,6E+05 ± 4,4E+04
BFB	ES2	3,5E+02 ± 0,1E+02	1,7E+03 ± 2,1E+02	2,3E+05 ± 4,4E+04
	C5	3,2E+02 ± 0,9E+02	6,9E+02 ± 1,9E+02	5,2E+05 ± 2,4E+04
BFC	ES2	6,9E+03 ± 8,7E+02	7,1E+03 ± 2,9E+02	1,1E+07 ± 0,9E+07
	C5	2,7E+03 ± 7,8E+02	1,0E+03 ± 0,7E+03	5,1E+05 ± 1,9E+05

Résumé

Le secteur industriel du traitement des déchets génère des émissions gazeuses induisant des nuisances odorantes auprès des populations riveraines des installations. Ces effluents gazeux contiennent une grande diversité de composés volatils : oxygénés (acides gras volatils, cétones, aldéhydes, alcools), azotés et soufrés (hydrogène sulfuré (H_2S), diméthylsulfure (DMS), diméthyldisulfure (DMDS) et méthaneéthiol (MT)). Ces effluents gazeux sont traités par un dispositif approprié que sont les bioprocédés. Néanmoins, les seuils de perception des composés odorants et plus particulièrement ceux des composés soufrés, très bas, obligent à atteindre des efficacités d'abattement particulièrement élevées, faute de quoi le résiduel de concentration peut être à l'origine d'un impact notable sur les populations riveraines. L'objectif de cette étude est donc d'améliorer les performances de ces procédés biologiques par la mise en œuvre de filières de traitement. L'originalité de ce travail est d'évaluer les performances d'épuration d'un mélange de composés soufrés par la mise en œuvre du couplage de deux procédés biologiques que sont le lit percolateur et le biofiltre.

Le premier résultat de ce travail de thèse a consisté à évaluer l'impact du pH sur l'activité de dégradation de composés soufrés en mélange (H_2S , DMS et DMDS) en mettant en œuvre des microcosmes. La valeur du pH de la phase aqueuse a une influence sur l'efficacité d'élimination des DMS et DMDS. Une élimination complète de ces derniers est observée pour une gamme de pH comprise entre 5 et 7. Les performances de ce couplage ont été comparées avec celles observées dans le cas de biofiltres seuls (dupliquats). Après une phase d'acclimatation, un fonctionnement stable est maintenu en conditions opératoires stationnaires. Les potentialités du couplage ont été mises en évidence, les niveaux d'abattement des DMS et DMDS étant supérieurs (de l'ordre de 20%) pour le couplage de bioprocédés. La composante microbiologique a fait l'objet d'une attention particulière en évaluant les densités de deux populations connues pour dégrader ces composés soufrés (*Hyphomicrobium* et *Thiobacillus thioparus*) par q-PCR au sein du biofiltre couplé au filtre percolateur et des biofiltres de référence. Les résultats obtenus mettent en évidence la présence de ces deux populations à des taux élevés (10^4 copies du gène ADNr-16S/ng ADN extrait pour *Thiobacillus thioparus* et 10^4 - 10^6 copies du gène ADNr-16S/ng ADN extrait pour *Hyphomicrobium*). La répartition de ces deux populations est similaire dans les deux cas (couplage et biofiltres seuls).

Face à des perturbations représentatives de celles observées sur site, la robustesse du couplage a pu être mise en évidence, les niveaux d'efficacité d'avant les chocs sont récupérés dans un délai inférieur ou égal à 72 heures après l'arrêt de la perturbation. Enfin, une application sur site (équarrissage) a été conduite sur une période de trois mois et a permis de valider les résultats de laboratoire et de montrer l'adaptabilité d'un tel système face à la variabilité d'un effluent réel.

Mots clés

Effluents gazeux malodorants ; Composés soufrés ; Lit percolateur ; Biofiltre ; Couplage de bioprocédés ; Performances ; Communauté bactérienne.

Abstract

Waste treatment industries generate gaseous emissions that may induce odour annoyance to the surrounding populations. These gaseous effluents contain a large variety of volatile compounds such as oxygenated (volatile fatty acids, ketones, aldehydes and alcohols), nitrogen and sulphur compounds (hydrogen sulphide (H_2S), dimethylsulphide (DMS), dimethyldisulfide (DMDS) and methanethiol (MT)). These gaseous emissions are controlled by using an adequate system such as biotechniques. Nevertheless, because of their very low odor thresholds, complete elimination of sulphur compounds has to be assessed, as the residual concentration can induce an odorous impact on neighbourhood populations. The aim of this study is to improve these bioprocesses performances by carrying out an adequate system strategy. The originality of this work is to evaluate the removal efficiency of a mixture of sulphur compounds by implementing a combination of two bioprocesses and more precisely a biotrickling filter and biofilter.

The first step of this PhD. work consisted of evaluating the pH impact on the biodegradation activity of a mixture of sulphur compounds (H_2S , DMS and DMDS) by using microcosms. The pH has an impact on the removal efficiency of DMS and DMDS. The total removal of these compounds is observed for a pH range between 5 and 7. The performances of the coupling have been compared with those reached by implementing control biofilters (duplicated). After an acclimatization period, stable performances are maintained under constant operating conditions. The efficiency of the coupling have been highlighted, the DMS and DMDS abatement levels are superior (around 20%) for the bioprocesses combination.

The microbiological component has been investigated within all biofilters by estimating the densities of two populations involved in the biodegradation of sulphur compounds (*Hyphomicrobium* and *Thiobacillus thioparus*), by using qPCR. The obtained results highlighted the presence of both populations at high level (10^4 copies of DNAr-16S gene/ng extracted DNA for *Thiobacillus thioparus* and 10^4 - 10^6 copies of DNAr-16S gene/ng extracted DNA for *Hyphomicrobium*). The repartition of these two bacterial populations is similar in both cases (coupling system and reference biofilters). Under transient shock load conditions, the robustness of the coupling has been revealed. The efficiency levels before the shock load are recovered 72 hours after the perturbation off. Finally, the monitoring of an on-site pilot (rendering facility) has been carried out during three months. The laboratory results have been confirmed and the suitability of such a system has been showed under industrial gas variability.

Key Words

Malodorous gaseous emissions; Sulphur compounds; Biotrickling filter ; Biofilter ; Bioprocesses coupling ; Performances ; Bacterial communities